BIOMATERIALE, IMPLANTOLOGIE ȘI PROTEZARE MEDICO – CHIRURGICALĂ

Volumul I

Editori:
Mihai Chiriță Ion Poeată

2002

Scanned with OKEN Scanner

BIOMATERIALE, IMPLANTOLOGIE ŞI PROTEZARE MEDICO-CHIRURGICALĂ

Volumul I

Editura STEF

Iaşi 2002

Scanned with OKEN Scanner

Coordonatori ştiinţifici:

Coordonator în ştiinţe medicale:

Prof.univ.dr. Ion POEATĂ
Facultătea de Bioinginerie medicală,
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa" Iaşi

Coordonator în ştiinţe tehnice:

Conf.univ. dr.ing. Mihai CHIRIŢĂ
Facultătea de Bioinginerie medicală,
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa" Iaşi

Tehnoredactare computerizată: Mihai Chiriţă

Coperta: Mihai Chiriţă

ISBN: 973-85012-2-9

Scanned with OKEN Scanner

Domnului prof. univ. dr. Valeriu Rusu
Decan al Facultății de Medicină generală
Cu deosebită considerație,
Autorii
22.01.2002

CUPRINS

Prefață I

Notă asupra ediției V

Colaboratori IX

I. Proteza de disc intervertebral 1

Ion POEATĂ, Alexandru CHIRIAC

II. Biomateriale utilizate în oftalmologie. Lentilele intraoculare. 35

Cristina Daniela LOSPA, Daniela Lorena RUSU

III. Clipurile anevrismale, prezent și perspective 69

Ion POEATĂ, Claudia ALBU, Marcel IVANOV

Scanned with OKEN Scanner

IV. Aliaje cu memoria formei 123
Gheorghe POP

V. Sisteme transdermale 157
Mihai CHIRIȚĂ, Gabriela GEORGESCU,
Maria D. VLAD, Mona CIUBOTARIU

VI. Tehnologia genei în tratamentul hemofiliei umane 275
Angela PAVEL

Abstracts 313

Authors brief curriculum vitae 321

Scanned with OKEN Scanner

Prefaţă

Treptat, prin amploarea dezvoltării protezelor şi a implanturilor, trecerea de la pluridisciplinaritate la interdisciplinaritate a condus la apariţia unei noi specialităţi şi anume aceea de **bioinginer medical** protezist sau implantolog.

După cum farmacistul are atribuţii specifice nefiind nici medic nici chimist, tot astfel noua specialitate, bioinginerul medical, a apărut din necesitatea stringentă de a proiecta, produce, testa, adapta, personaliza şi gestiona protezele şi implanturile.

Bioinginerului protezist îi sunt destinate atribuţii precise în cercetare, în serviciile de sănătate, în industria medicală, în institutele de învăţământ etc.

Un organ bolnav poate fi înlocuit cu o proteză (protezat), cu o grefă (transplant) sau poate fi reconstruit utilizând informaţia genetică (terapie genetică şi moleculară). Aceste trei metode biotehnologice tind să înlocuiască sau să completeze metodele terapeutice clasice.

Problematica protezării şi a implantologiei este deosebit de complexă incluzând exo- sau endoproteze, implanturi temporare sau definitive, implanturi mixte constituite din biomateriale şi culturi celulare etc. În plus, pe lângă domeniile protezării şi implantologiei stomatologice sau în ortopedie, devenite clasice, în prezent regăsim un astfel de domeniu în aproape toate specialităţile. Tehnicile chirurgicale, anestezice şi de terapie intensivă moderne, permit efectuarea, cu risc minim, a celor mai complexe endoprotezări.

Datorită progreselor rapide ale ştiinţei şi tehnicii moderne, implantologia percutană a cunoscut, în ultimii ani, un deosebit avânt. Toate articulaţiile pot fi protezate, există numeroase alternative pentru reconstrucţii

Scanned with OKEN Scanner

osoase, implan-turi dentare, grefe vasculare, stenturi, valve cardiace, electrozi de simulare, catetere, pompe cu medicamente, sisteme de drenaj etc.

Rinichiul artificial, circulaţia extracorporeală, o serie de endoproteze auditive etc. sunt realizări remarcabile ale secolului 20, intrate în uz curent, în timp ce proteza cardiacă, proteza oculară, plămânul artifical au perspec-tive apropiate de utilizare pe scară largă.

Toate aceste realizări, apariţia şi dezvoltarea terapeuticei protetice şi implantologice, nu ar fi fost posibile fără concursul generos al ştiinţelor tehnice fundamentale şi aplicative.

Există astfel o legătură indisolubilă între implantologie şi ştiinţa materialelor de uz medical, numite **bio**materiale.

Acestea pot fi substanţe, altele decât medicamente sau combinaţii de substanţe, sintetice sau de provenienţă naturală, care pot fi utilizate pentru o perioadă de timp, ca parte sau ca întreg, în tratarea, ameliorarea sau înlocuirea unui ţesut, organ sau a unei funcţii a organismului. De exemplu, un implant sau o proteză sunt sisteme construite din unul sau mai multe biomateriale care pot fi: anorganice (ceramice, metalice), organice naturale, organice sintetice şi biocompozite.

Pentru a răspunde solicitărilor ultimilor ani, cererea de noi materiale performante a devenit din ce în ce mai specializată, culminând cu aplicaţiile biomedicale.

Abordarea domeniului biomaterialelor constituie o direcţie de cercetare multidisciplinară, care implică cunoaşterea anatomiei şi fiziologiei normale şi patologice, definirea mecanismelor de control, modelarea sistemelor în scopul reproducerii echilibrului şi performanţelor morfologice şi funcţionale naturale. Pe de altă parte, design-ul şi prepararea materialelor cu structură controlată, ierarhizată după regulile naturale, constituie o nouă etapă în sinteza macromoleculelor, implicâd definirea exactă a structurii lor primare cât şi a compoziţiei chimice complexe.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru început, singura metodologie disponibilă pentru producerea unor astfel de polimeri implică sinteza genetică şi tehnologia ADN-ului recombinant spre a obține proteine structurate, artificiale. Aceste tehnologii conduc la obținerea de materiale polimerice care pot îndeplini in vivo funcții care nu pot fi performate de materialele sintetice obținute prin metode convenționale.

Domeniul biomaterialelor este extensiv, interferând domenii ştiințifice ca: ştiința materialelor, chimia organică, chimia anorganică, chimia-fizică, biochimia, enzimologia, biofizica, medicina, metalurgia, ingineria, genetica, farmacia etc., şi priveşte în special implanturile şi dispozitivele medicale şi interacțiunile acestora cu țesuturile cu care vin în contact precum şi sistemele medicamentoase.

În majoritatea aplicațiilor biomedicale, biomaterialele trebuie să îndeplinească, după caz, cerințe specifice cu privire la activitatea biologică, rezistență mecanică, durabilitate chimică, bioresorbție, bioeroziune etc. sau combinații sinergetice ale acestor caracteristici întâlnite la materialele biocompozite.

Utilizarea polimerilor în scopuri biomedicale elimină o serie de neajunsuri referitoare la transplanturile de organe, cum ar fi: incompatibilitatea genetică dintre donor şi acceptor, nerecunoaşterea structurii şi mecanismului de acțiune a antigenelor, de histocompatibilitate, precum şi operațiile de prelevare şi conservare a organelor înainte de a suferi modificări ireversibile.

Există astăzi în testări clinice structuri hibride sintetic-naturale. Acestea sunt constituite dintr-o grefă sintetică (matrice resorbabilă biocompatibilă) cu rol de suport pentru anumite tipuri de celule care se dezvoltă aici în condiții date. Geluri obținute din colagen şi glicozaminoglicani, ca suport pentru celule vii, au fost testate pentru grefe de piele şi de vase de sânge.

Metalele şi aliajele acestora sunt utilizate în ortopedie, stomatologie sau

Scanned with OKEN Scanner

în alte aplicaţii biomedicale având rol de susţinere; ceramicele sunt folosite datorită naturii lor inerte sau, după caz, bioactivităţii accentuate; polimerii structuraţi specific sunt utilizaţi la înlocuirea ţesutuirlor moi iar cei nestructuraţi în alte numeroase apliacţii. Biomaterialele sunt folosite spre a menţine echilibrul dintre proprietăţile mecanice ale părţilor tisulare înlocuite şi efectele biochimice induse de către acestea ţesuturilor gazdă, vicinale.

Mecanica fină, electronica medicală, tribologia, robotizarea, informatica, fizica sunt numai câteva dintre ramurile ştiinţei, cu caracter fundamental sau aplicativ, care au contribuit activ la progresele realizate în implantologia actuală şi care au dezvoltat subramuri specifice numite: **bio**mecanică, **bio**electronică, **bio**tribologie, **bio**informatică, **bio**fizică etc.

Actualitatea dar şi importanţa acestui nou domeniu este atestată de numărul extrem de mare de lucrări ştiinţifice publicate în ultimii ani în lumea întreagă. Astfel, numai pe adresa Medline, din luna ianuarie 1996 şi până în luna martie 1999 se regăsesc 19.817 de articole cu subiectul compozite cu aplicaţii medicale.

Există astăzi o preocupare permanentă de rezolvare eficientă a neajunsurilor ridicate de compatibilitatea implant – organism, reeducarea şi recuperarea pacientului protezat etc.

Continua îmbogăţire a literaturii de specialitate cât şi interesul crescut al multor specialişti din domenii conexe ale cunoaşterii privind domeniul biomaterialelor şi al protezării, fac dovada importanţei incontestabile a acestei metode terapeutice în contextul culturii şi civilizaţiei contemporane.

Prof.univ.dr. Florin Topoliceanu

Decan al Facultăţii de Bioinginerie medicală,
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa" Iaşi.

Scanned with OKEN Scanner

Notă asupra ediţiei

Fondată în anul 1994, în cadrul Universităţii de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa" din Iaşi, Facultatea de Bioinginerie medicală s-a constituit încă de la început ca un pol de interes naţional al învăţământului superior românesc.

Pentru a răspunde cerinţelor actuale de îmbunătăţire continuă a actului medical, Facultatea de Bioinginerie medicală din Iaşi, corelând selectiv şi specific cunoştinţe din domenii conexe ale cunoaşterii, fundamentale, medicale şi tehnice, pregăteşte bioingineri medicali după patru direcţii distincte de specializare:

- substanţe bioactive şi biotehnologie medicală;
- biomateriale şi tehnologie protetică;
- bioinstrumentaţie şi tehnică medicală;
- bioinformatică şi management sanitar.

Într-un interval de timp extrem de scurt de la fondarea facultăţii, cu eforturi şi sacrificii considerabile, tânărul colectiv de cadre didactice proprii a pus la dispoziţia studenţilor dar şi a publicului larg, primele monografii româneşti privind biomaterialele şi elemente de bioinginerie neurochirurgicală.

Pe parcursul ultimului semestru al anului 2001, apărută în librăriile din unele centre universitare din ţară, **Colecţia BIOINGINERIE MEDICALĂ,**

Scanned with OKEN Scanner

Ed.Tehnică-INFO Chişinău, a trezit un viu interes printre specialiştii multor domenii de activitate. Colecţia cuprinde monografii sau tratate, ale căror tematici se încadrează în una dintre cele patru specializări ale facultăţii noastre.

Această primă iniţiativă personală reuşită m-a motivat, propunând colegilor din departament, cu scopul de "fluidizare" a informaţiei, o a doua colecţie de carte intitulată **BIOMATERIALE, IMPLANTOLOGIE ŞI PROTEZARE MEDICO – CHIRURGICALĂ.**

Noua colecţie materializează experienţa specialiştilor noştri, oglindind eforturile permanente ale colectivului de cadre didactice ale departamentului de Biomateriale şi tehnica sistemelor de protezare, în a pune la dispoziţiea bioinginerilor medicali, a medicilor şi a specialiştilor din diverse domenii de activitate, a studenţilor şi a tuturor celora interesaţi, de noile concepte, descoperiri, tehnologii şi aplicaţii ale ştiinţei şi tehnicii actuale în domenii biomedicale.

Capitolele vor cuprinde un numar mai restrâns de pagini, comparativ cu monografiile din colecţia BIOINGINERIE MEDICALĂ, astfel încât informaţia să ajungă mai repede la cititor, să fie mai recentă, eliminându-se eforturile uriaşe şi timpul îndelungat necesar autorilor în realizarea de lucrări ample, ca monografii sau tratate.

Tematicile abordate în BIOMATERIALE, IMPLANTOLOGIE ŞI PROTEZARE MEDICO – CHIRURGICALĂ vor fi în perfectă concordanţă cu obiectele de studiu şi disciplinele acestui departamentului de Biomateriale şi tehnica sistemelor de protezare, după cum urmează:

- biomateriale (ceramice, metalice, organice naturale, sintetice);

Scanned with OKEN Scanner

- biopolimeri;
- compozite polimerice (anorganice, naturale, sintetice);
- ştiinţa şi tehnologia materialelor;
- ştiinţa şi tehnologia biomaterialelor
- materiale inteligente, cu memoria formei;
- sisteme de eliberare controlată a medicamentelor;
- medii poroase, electrozi şi biosenzori;
- componente de protezare (piele, celuloză, dezivi, lianţi, cimenturi);
- biocompatibilitate, hemocompatibilitate;
- substituenţi (sanguini, de plasmă, osoşi etc.);
- biomateriale protezabile şi proiectare;
- inginerie citotisulară, inginerie genetică, culturi citotisulare;
- design protetic;
- biomecanică, mecanica protezării;
- ţesuturi şi organe artificiale şi bioartificiale;
- implantologie;
- elemente de macro şi microprotezare;
- anatomie clinică neurolocomotorie;
- sisteme de protezare (dermică, ortopedică, spinală, ORL, estetică etc.);
- patologie şi terapeutică protetică ortopedică;
- patologie şi terapeutică protetică neurochirurgicală;
- patologie şi terapeutică protetică oftalmologică;
- patologie şi terapeutică protetică otorinolaringologică;
- patologie şi terapeutică protetică maxilofacială;
- patologie şi terapeutică protetică stomatologică;
- patologie şi terapeutică protetică în urologie;
- patologie şi terapeutică protetică în obstetrică şi ginecologie;
- patologie şi terapeutică protetică în chirurgie generală;
- patologie şi terapeutică protetică în dermatologie;

Scanned with OKEN Scanner

- patologie şi terapeutică protetică în chirurgia plastică şi reconstructivă;
- patologie şi terapeutică substitutivă hematologică;
- terapie recuperatorie fizică (balneologie, fizioterapie, chineziologie).

Colecţia de carte BIOMATERIALE, IMPLANTOLOGIE ŞI PROTEZARE MEDICO – CHIRURGICALĂ reflectă totodată caracterul interdisciplinar al preocupărilor bioinginerului medical, la interfaţa ştiinţelor medicale cu acelea tehnice şi atestă integrarea rapidă a acestui nou tip de specialist în activităţi aplicative şi de cercetare, specifice.

În scopul mediatizării experienţei departamentului nostru şi al stabilirii de noi contacte ştiinţifice, aplicative sau de cercetare cu alte colective din ţară şi din străinătate, volumele conţin rezumatele în limba engleză a capitolelor şi câte un scurt curriculum vitae al autorilor.

Aduc mulţumirile mele tuturor celor care au colaborat la alcătuirea acestei cărţi.

Mihai Chiriţă

Scanned with OKEN Scanner

Autori

La realizarea prezentei ediţii au colaborat:

1. **Prof.dr.Ion POEATĂ** – Şef departament - Biomateriale şi tehnica sistemelor de protezare, Facultatea de Bioinginerie medicală, Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa" Iaşi.

2. **Conf.dr.ing.Mihai CHIRIŢĂ** – Şef catedră - Biomateriale şi tehnologie protetică, Facultatea de Bioinginerie medicală, Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa" Iaşi.

3. **Conf.dr.Gabriela GEORGESCU** - Şef disciplină – Informatică medi-cală, Facultatea de Medicină generală, Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa" Iaşi.

4. **Ş.l.dr.ing.Daniela Lorena RUSU** – Şef disciplină – Biomateriale organice sintetice, Facultatea de Bioinginerie medicală, Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa" Iaşi.

5. **Ş.l.drd.biol.Angela PAVEL** – Şef disciplină – Biologie generală, Culturi citotisulare şi Genetică aplicată, Facultatea de Bioinginerie medicală, Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa" Iaşi.

Scanned with OKEN Scanner

6. **Ş.l.dr.ing.Gheorghe POP** – Şef disciplină – Biomateriale anorganice, Facultatea de Bioinginerie medicală, Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa" Iaşi.

7. **Prep.drd.bioing.Maria Daniela VLAD** – Disciplina de Biomateriale organice naturale, Facultatea de Bioinginerie medicală, Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa" Iaşi.

8. **Dr.Marcel IVANOV** – medic rezident, departamentul de neuro-chirurgie, Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa" Iaşi.

9. **Bioing. Alexandru CHIRIAC** – Spitalul de Neurochirurgie Iaşi.

10. **Bioing.drd. Cristina Daniela LOSPA** – doctorand cu frecvenţă la Facultatea de Chimie industrială, Universitatea Tehnică "Gh.Asachi" Iaşi.

11. **Bioing. Mona CIUBOTARIU** – Facultatea de Fizică, Universitatea "A.I.Cuza" Iaşi.

12. **Stud.Claudia Adriana ALBU** – an final de studiu la specializarea Biomateriale şi tehnologie protetică, Facultatea de Bioinginerie medicală, Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T.Popa" Iaşi.

Scanned with OKEN Scanner

I

Proteza de disc intervertebral

Ion POEATĂ, Alexandru CHIRIAC

CUPRINS

1. Introducere 2

2. Mecanismele degenerării articulației intervertebrale 3
3. Conceptul de disc intervertebral 4
3.1. Proteze alcătuite din metale şi aliaje 9
3.2. Proteze construite din polimeri şi materiale ceramice 11
3.3. Proteze alcătuite din combinații ale materialelor metalice şi nemetalice 13

4. Proteza de nucleu pulpos 17

5. Testări biomecanice ale sistemelor de protezare a articulației intervertebrale 23
5.1.Testarea protezei de disc intervertebral SB Charite III 24
5.2. Testarea protezei de nucleu pulpos RayMedica 29

Bibliografie 32

Scanned with OKEN Scanner

Proteza de disc intervertebral

Ion POEATĂ, Alexandru CHIRIAC

1. Introducere

Coloana vertebrala îndeplineşte simultan două funcţii distincte care aparent sunt în conflict: prima o constitue o axa centrală puternică, dar mobilă a scheletului şi cea de a doua care asigură protecţia structurilor nervoase (măduva spinării şi rădăcinile nervilor rahidieni) cu rol major în legătura creierului cu restul corpului omenesc [8,5].

Aceasta dublă funcţie a coloanei este asigurată de către o structură îmbinată compusă dintr-o serie de 25 elemente osoase (24 vertebre mobile şi complexul sacrococcigian alcătuit din mai multe vertebre sudate), legate între ele prin 74 de articulaţii care îi asigură mobilitatea în toate cele trei planuri: flexie-extensie, rotaţie axială şi înclinare laterală. Ca orice articulaţie şi articulaţia intervertebrală este supusă la solicitări repetate de încărcare care apar în timpul mişcărilor sau a menţinerii posturilor. Elementul principal care asigură articularea corpilor vertebrali între ei îl constituie discul intervertebral (structură cartilaginoasă) [8,5].

Din punct de vedere biomecanic discul intervertebral poate fi considerat o structură compozită alcătui dintr-o parte centrală (*nucleu pulpos* - cartilaj hialin) înconjurată la periferie de mai multe straturi de fibre cartilaginoase, concentrice care formează *inelul fibros*. Nucleul pulpos este la rândul său alcătuit dintr-o matrice de colagen în care se găsesc proteine hidrofile de tipul proteoglicanilor şi celule (condrocite). Conţinutul în apă al nucleului pulpos este de aproximativ 80% din volumul total, cantitatea reducându-se gradual odată cu înaintarea în vârsta. Discul intervertebral este ataşat la corpii

vertebrali adiacenți (superior si inferior) prin intermediul a două plăci cartilaginoase aderente la acestea [5].

Discul intervertebral este lipsit de un aport sanguin direct, după vârsta de trei ani. Ciclul de încărcare-relaxare la care este supus discul intervertebral în timpul mișcărilor fiziologice normale poate fi asemănat cu mecanismul aspiro-respingător al unei pompe (figurile 2 și 3). Acest mecanism asigură, prin intermediul fenomenului de difuzie a apei împreună cu substanțele dizolvate, aportul de nutrienți necesari condrocitelor. Concomitent cu acest fenomen are loc și îndepărtarea produșilor rezultați în urma catabolismului celular (figura 1) [8].

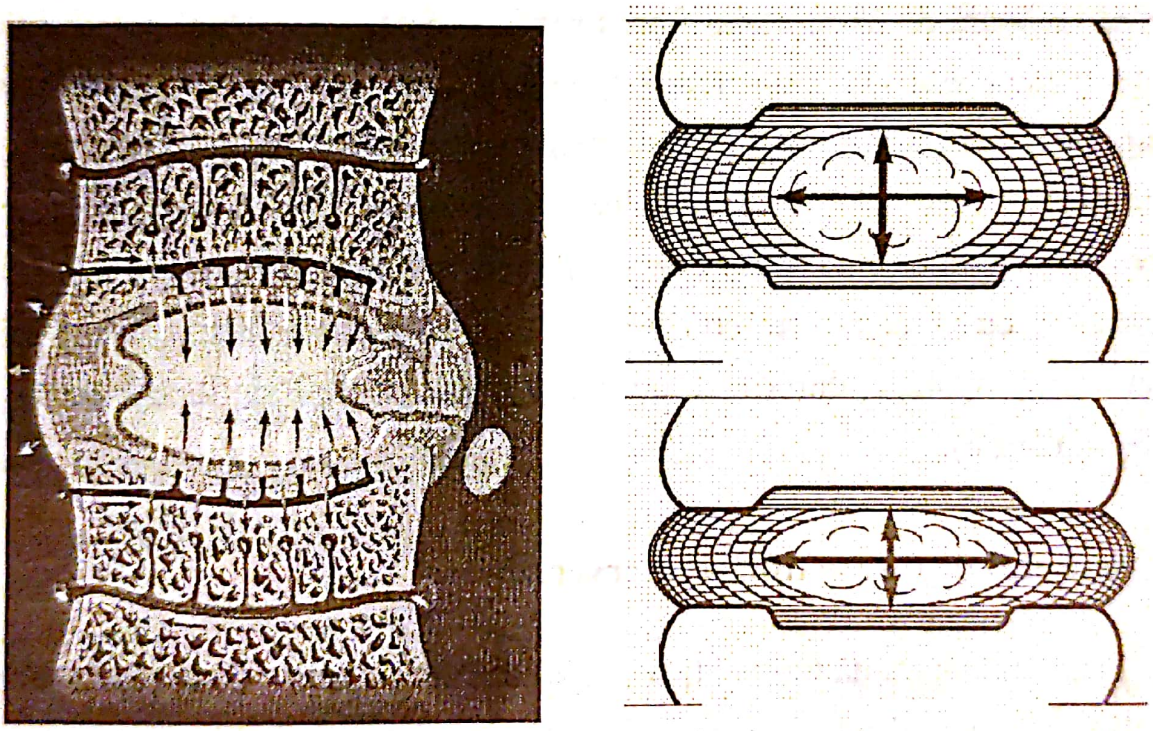


Fig.1: Fenomenul de difuzie a apei la nivelul discului intervertebral.

2. Mecanismele degenerării articulației intervertebrale

Coloana vertebrală poate fi asemănată cu un "sistem modular integrat" în sensul că o defecțiune apărută într-un punct al sistemului determină o

creştere a stresului în zonele învecinate, ducândîn final la declanşarea unei "cascade degenerative".

Procesul fiziologic de îmbătrânire precum şi suprasolicitările la încărcare la care este supusă articulaţia intervertebrală pot determina schimbări majore în compoziţia proteoglicanilor (modificări biochimice) care au ca efect imediat scăderea conţinutului în apă a nucleului pulpos şi creşterea pH-ului la nivelul acestuia. Toate aceste modificări au ca efect major colapsarea întregului nucleu pulpos [4,5,8].

În aceste condiţii, în timpul solicitărilor fiziologice la care este supus discul intervertebral scade încărcarea pe nucleul pulpos, aceasta fiind preluată în mare măsură de către inelul fibros sănătos. Suprasolicitarea inelului fibros poate genera apariţia unor fisuri la nivelul acestuia sau poate determina colapsarea întregii articulaţii intervertebrale (pensarea spaţiului intervertebral ca urmare a aplatizării întregului disc). La nivelul fisurilor apărute în inelul fibros poate avea loc migrarea nucleului pulpos la exterior (hernierea nucleului), cu afectarea structurilor nervoase învecinate. Toate aceste au ca efect clinic apariţia durerii şi uneori instalarea unor deficite neurologice (pareza, plegie).

3. Conceptul de disc artificial intervertebral

Principala metodă terapeutică utilizată şi astăzi cu succes în cazul herniei de disc intervertebral este reprezentată de simpla disectomie a discului degenerat. Această metodă este în unele cazuri însoţită de o fuziune între corpii vertebrali prin diverse procedee (grefe osoase şi o fixare intercorporeală cu plăcuţe şi şuruburi transpediculare) [1,9,12,13]..

Complicaţiile care pot apare în urma aplicării acestor metode terapeutice precum şi dorinţa tot mai mare de a asigura o articulaţie intervertebrală cu o funcţionalitate cât mai apropiată de cea fiziologică normală a condus la apariţia conceptului de *disc artificial intervertebral*.

Scanned with OKEN Scanner

Progresele ştiinţei în domeniul implantologiei, înregistrate în ultimii 50 de ani, au impus conceptul de protezare a spaţiului intervertebral. Discul artificial este tot mai mult avut în vedere de către marile companii producătoare de proteze şi implanturi.

În prezent există şase mari companii producătoare de proteze de disc artificial intervertebral a căror produse au fost implantate sau care urmează a fi implantate în special în clinici de specialitate din Europa. Aceste companii sunt: Waldemar Link GmbH&Co., Raymedica Inc., De Puy Acromed Corp., SulzerMedica, Medtronic Sofamor Danek, Aesculap AG & Co.KG [3] .

În vederea dezvoltării şi punerii în practică a conceptului de "disc artificial intervertebral" pe toată durata apariţiei şi perfecţionării acestei proteze principalele elemente evaluate au fost legate de [7,12]:

- proprietăţile materialelor cu referire la biocompatibilitate, durabilitate şi rezistentă la compresiune;
- un design care să refacă dinamica naturală a discului;
- compatibilitatea între diverse materiale folosite cu referire la acţiunea distructivă a unuia asupra celuilalt;
- o tehnică de inserţie cât mai sigură;
- o fixare între gazda şi implant cât mai bună.

Tehnica protezării discului intervertebral urmăreşte fie înlocuirea totală a discului degenerat (nucleu pulpos, inel fibros şi plăci cartilaginoase: proteza totală de disc intervertebral), fie numai înlocuirea nucleului pulpos cu păstrarea inelului fibros sănătos (proteza de nucleu pulpos). Ambele metode terapeutice impun o refacere a structurii naturale a discului cât mai apropiată de cea fiziologic normală, asigurarea unei durabilităţi a implantului de cel puţin 40 de ani şi folosirea unei tehnici chirurgicale cât mai uşoare şi mai sigure în timpul plasării sau repoziţionării acestuia. Înlocuirea totală a discului va fi utilizată atunci când îndepărtarea tuturor surselor posibile de

Scanned with OKEN Scanner

durere este necesară şi când inelul fibros prezintă un grad de degradare care nu mai poate permite o eventuală vindecare a acestuia [5].

Sursa durerii în hernia de disc a constituit întotdeauna un subiect intens dezbătut. Următoarele elemente au fost incriminate: discul degenerat, degenerarea elementului osos vecin, a articulațiilor interapofizare, contractura musculară, modificarea traiectului normal al rădăcinii nervoase; iritația sau compresiunea rădăcinii nervului rahidian adiacent discului herniat.

Cursul evoluției şi dezvoltării conceptului de disc artificial intervertebral a fost puternic influențat de modul diferit de gândire a mai multor specialişti, care au emis diverse teorii privind design-ul ideal pentru o proteză de disc intervertebral. Câteva dintre aceste concepte au fost puse în practică şi testate preclinic, unele constituind astăzi adevărate produse de utilizare largă. Principalele designuri întâlnite la proteza de disc artificial intervertebral au fost [5]:

- suprafețe de alunecare de joasa fricțiune (figura 4)
- sisteme tip arc şi balama (figura 5)
- sisteme tip cameră cu lichid (figura 6)
- discuri din cauciuc şi alți elastomeri (figura 7)
- hidrogel îmbrăcat intr-o textură din polietilenă (figura 8)

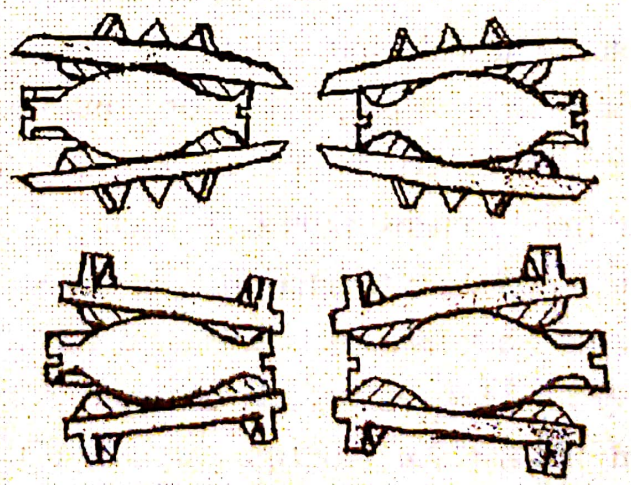


Fig.4

Scanned with OKEN Scanner

Fig.5

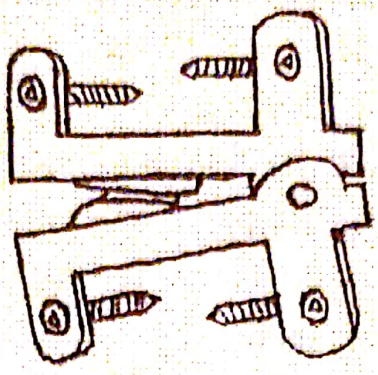


Fig.6

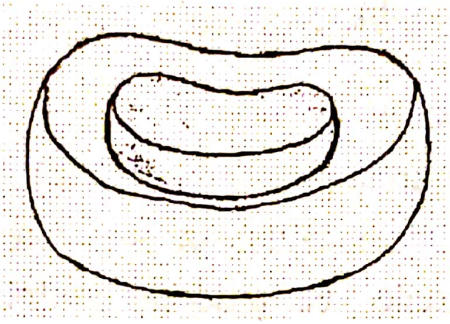


Fig.7

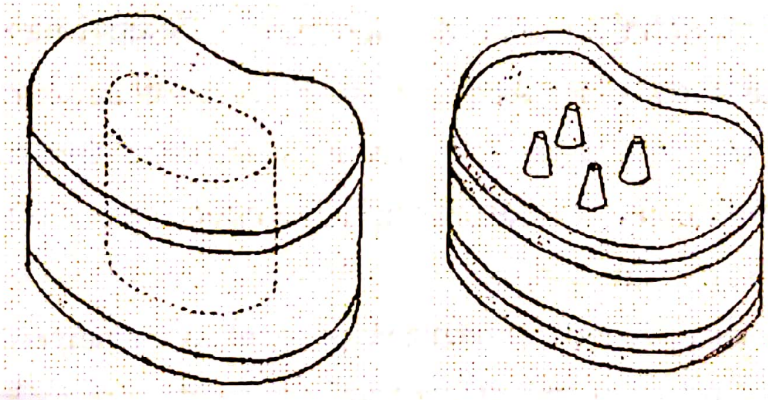
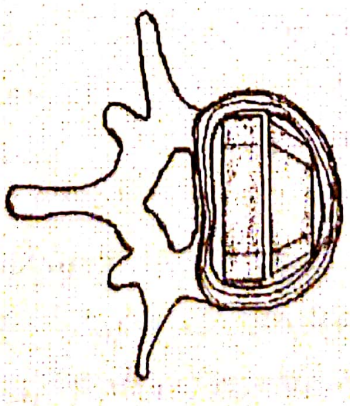


Fig.8



Scanned with OKEN Scanner

Conceptele privind protezarea spațiului intervertebral pot fi împărțite in:

a. Conceptul sferic:

Conceptul de "sferă" în cazul protezelor de disc artificial intervertebral constituie un design original de pionierat care datează încă dinainte de anii 50. Conceptul de "sfera" a constat in esența in plasarea unei bile dintr-un material dur in cavitatea nucleului pulpos după disectomie. Inelul fibros este păstrat intact iar bila este plasată în interiorul acestuia ca dispozitiv de înlocuire a nucleului pulpos [4,7].

b. Conceptul mecanic:

Designul rezultat în urma punerii în practică a conceptului mecanic s-a dovedit a fi cea mai căutată modalitate de protezare a spațiului intervertebral. Definim protezele mecanice ca produse de înlocuire totală a discului intervertebral ce au ca scop restabilirea gradului de mobilitate a unității segmentului vertebral şi chiar de menținere a funcției naturale de absorbție a încărcării de către disc. Aceste dispozitive sunt adesea alcătuite din două plăcuțe metalice cu cuie sau urechiuşi utilizate pentru fixarea la corpii vertebrali şi un centru de forma eliptică confecționat din polietilenă, material elastomeric sau chiar ceramic.

Aceste dispozitive se bazează pe acelaşi principiu de reconstrucție a articulației similar cu cel al protezei totale de genunchi. Acest concept a condus la realizarea unor variate tipuri de proteze, de la cele mai simple la cele mai complexe [4,7].

c. Conceptul fiziologic:

Conceptul fiziologic este reprezentat de o serie de dispozitive, de obicei de forma unor saci de mici dimensiuni realizați din hidrogel, elastomer sau poliuretan. Aceştia sunt utilizați cu scopul de a restabili funcția morfo-functională a discului intervertebral. Acest lucru este realizat prin jocul absorbție-pierdere de fluid în, şi din spațiul dintre cele doua platouri

Scanned with OKEN Scanner

cartilaginoase, concomitent cu preluarea încărcărilor datorate solicitării coloanei vertebrale. De obicei aceste dispozitive sunt doar soluții (geluri) speciale sau soluții în interiorul unei cămăși permeabile. Scopul principal al punerii în practică a acestui concept este de a realiza simultan îndepărtarea durerii, refacerea înălțimii naturale a discului, refacerea funcțiilor fiziologice naturale și restabilirea proprietăților biomecanice și cinematice ale articulației vertebrale [4,7].

Prezentăm o clasificare a protezelor de disc intervertebral luând în considerare natura materialului din care au fost confecționate.

3.1. Proteze alcătuite din metale şi aliaje

Principalul avantaj al utilizării protezelor de disc metalice este reprezentat de înalta rezistență la oboseala oferită de aceste materiale. Hellier şi Hedman consideră ca un material poate fi utilizat la confecționarea unei proteze de disc intervertebral dacă rezistă la un test de încărcare de încărcare de 100 milioane de cicli. Ambii consideră ca acest test reprezintă echivalentul a 40 de ani de funcționare a unei proteze de disc implantate. Tot ei afirmă că doar metalele pot trece acest test de longevitate. Biocompatibilitatea unor aliaje metalice ca oțel inoxidabil, cobalt-crom, titan şi aliajele sale a fost demonstrate cu prilejul unor aplicații ortopedice anterioare.

In 1954 Knowles a încercat realizarea pentru prima dată a unei proteze de disc intervertebral constând într-un dispozitiv metalic solid ce serveşte ca suport de fixare posterioară a apofizelor spinoase. S-a încercat astfel o redistribuire o forțelor compresive pe elementele posterioare şi îndepărtarea stresului de pe discul degenerat. Totuşi acest dispozitiv nu poate fi considerat o adevărata proteză de disc intervertebral.

Compania Sofamor Danek a experimentat o serie de proteze de disc asemănătoare ca design cu cea patentată de Patil în 1982 şi care era compusă din două platouri metalice (aliaj Co-Cr sau Ti) sub forma de cupe ce permit

Scanned with OKEN Scanner

distribuirea forţelor de compresiune pe întreaga lor suprafaţa. Aceste platouri prezintă pe faţa externă cuie de fixare pe os, iar între ele se găsesc aranjate numeroase arcuri din oţet inoxidabil. O altă variantă a aceleaşi proteze utilizează "Hedrocel" (material ce conţine 80% aer şi 20% o combinaţie între titan şi carbon vitros) ca material pentru realizarea platourilor. Nu s-au publicat rezultatele experimentelor clinice în cazul acestei proteze [12].

Baumgartner a sugerat reducerea numărului de articulaţii dintre componente şi revenirea la proteza formată dintr-o singură piesă, confecţionată dintr-un material rezistent, dar relativ elastic, aşa cum este titanul. Design-ul acestei proteze cuprinde multiple striaţii ascuţite pe feţele superioară şi inferioară care ajută la fixarea acesteia de corpii vertebrali [12].

Shappard proiectează o proteză dintr-o singură piesă sub forma de glonţ utilizând ca material de confecţionare Ti sau material ceramic. A fost utilizată doar pentru coloana cervicala.

Hedman a dezvoltat un dispozitiv care utilizează două arcuri înfăşurate între două placi din aliaj de Ti sau Co-Cr cu conţinut crescut de carbon şi care sunt unite posterior printr-o balama. Arcurile sunt confecţionate din aliaj de Ti şi proiectate pentru a furniza o rigiditate adecvată atât în flexie cât şi în extensie. Fixarea de os se face prin intermediul a patru perechi de urechiuşe utilizând şuruburi (figura 9). Dezavantajul acestui tip de proteză este reprezentat de aderarea ţesutului fibros la arcuri [11].

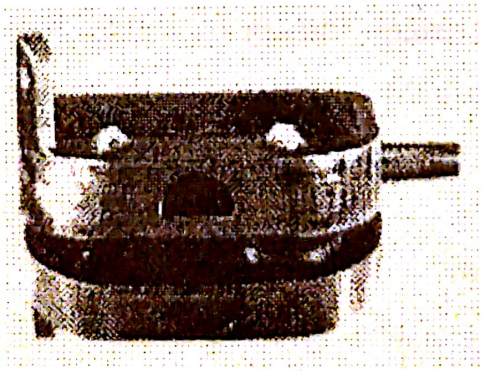


Fig. 9 Proteza Hedman

Scanned with OKEN Scanner

3.2. Proteze construite din polimeri şi materiale ceramice

Deşi nu se caracterizează prin aceeaşi rezistenţă la oboseală în raport cu metalele, permit realizarea unor proteze cu proprietăţi similare discului natural. Deoarece materialele se caracterizează printr-un modul de elasticitate scăzut, este foarte uşor, ca în scurt timp de la implantare, protezele confecţionate din aceste materiale să refacă dinamica normală a articulaţiei intervertebrale. Dezavantajul este reprezentat de fixarea dificilă la os [11,12].

În 1956 van Steenbrugghe descrie un disc multicomponent alcătuit din mai multe straturi de perne din material plastic de diverse forme. Metoda de ancorare la os nu a fost precizată [11,12]. În 1973 Dr. Urbaniak a implantat 8 proteze la 4 cimpanzei adulţi. Protezele au constat dintr-o parte centrală siliconică cuprinsă între două plase de Dacron întărite cu mai multe straturi de silicon. Au existat totuşi complicaţii importante corelate cu biocompatibilitatea materialului iar tehnica chirurgicală era dificilă. In 1975 Stubstad utilizează poliuretanul pentru a confecţiona o proteza de disc având o porţiune centrală reniformă, plină cu lichid (soluţie salină). Această parte centrală este poziţionată între două platouri rigide din ceramică [11,12].

În anul 1978 Weber proiectează o proteză de disc tri-componentă compusă din două corpuri suport îmbinate central printr-o cavitate şi articulate lateral printr-un perete de susţinere. Corpurile suport sunt confecţionate din polietilenă, iar peretele lateral din material bioceramic. Mai târziu design-ul a fost îmbogăţit cu muchii pe corpurile suport atât dorsal cât şi ventral, pentru a preveni dislocarea peretelui lateral în timpul mişcărilor extreme (figura 10) [11].

Edeland sugerează realizarea unei proteze cu un design asemănător cu a celui propus de Weber. Acesta cuprinde un nucleu central realizat din silicon poros şi inserat între două placi de polietilenă. El propune de asemenea câteva modalităţi de protezare a spaţiului intervertebral cum ar fi: un nucleu siliconic înconjurat de un inel din polietilenă sau un nucleu siliconic fixat în

Scanned with OKEN Scanner

interiorul unui arc tubular confecționat din polietilenă. El susține faptul că este necesar ca materialul utilizat la aceste tipuri de proteze sa fie verificate mai întâi din punct de vedere al proprietăților lor biomecanice şi de biocompatibilitate pe termen lung.

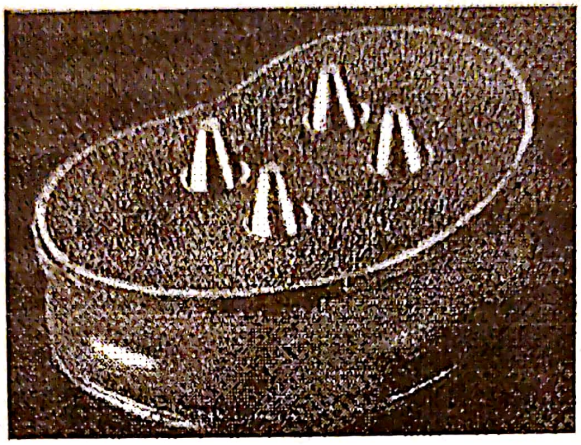


Fig.10 Proteza Weber

Manson propune o proteză confecționată în întregime din cauciuc.

Această proteză este alcătuită din două cupe lipite laolaltă cu un adeziv de uz medical. Cavitatea formată de alipirea acestora este umplută cu o soluție salină.

Dove realizează o proteză cu un design asemănător cu a unei potcoave de cal. El recomandă ca pentru confecționarea acestei proteze să se utilizeze un material compozit alcătuit dintr-un material plastic şi fibre de carbon. Materialele propuse de Dove pentru a fi utilizate la fabricarea acestui tip de proteze au fost: răşini epoxidice; nitrat de calciu; titan; oțel inoxidabil; materiale ceramice; polietilenă-hidroxiapatită; polietilenă-hidroxibutirat. Fixarea la corpii vertebrali se realizează cu ajutorul a trei perechi de urechiuşe şi şase şuruburi de fixare [1,4].

Salib şi Pettin au creat un dispozitiv protetic de tipul "ball and socket" (bilă în cupă) confecționat din *ceramică de oxid de zirconiu*. Fixarea acestuia se face cu ajutorul urechiuşelor de fixare. Această proteză prezintă 6 grade de libertate, dar mişcările din timpul supraîncărcării pot duce la creşterea fricțiunii şi apariția de impurități de uzură [1].

Scanned with OKEN Scanner

Dr.Casey Lee şi Parson au proiectat o proteză ce cuprinde o parte centrală dintr-un elastomer flexibil înconjurată de un scut de întărire format din fibre dintr-un elastomer mai rigid. Toate aceste componente sunt fixate de două placi confecționate din elastomer dur, metal sau material ceramic (hidroxiapatita). Este pentru prima dată când printr-o alegere corectă a materialelor, componentele au putut imita atât modulul de elasticitate cât şi rezistența la compresiune-torsiune. Proteza a fost evaluată atât în vitro cât şi în vivo. Materialele utilizate în confecționarea acesteia sunt: cauciucul siliconic, poliuretanul, şi mai recent un material compozit termoplastic numit C-Flex.

Todano propune o proteză cu un design de tip sandwich alcătuită din două plăcuțe de 2mm între care se găseşte un disc semicircular elastomeric de 8mm, îmbrăcat într-un elastomer mai rigid. Pentru confecționarea plăcuțelor s-a folosit sticlă ceramică conținând apatită.

Stone propune regenerarea discului prin crearea unei matrici poroase având ca structură biocompatibilă şi bioresorbabilă fibre biopolimerice conținând glicozamino-glicani [1,4].

3.3. Proteze alcătuite din combinații ale materialelor metalice şi nemetalice

Combinarea materialelor metalice cu cele nemetalice (polimeri, elastomeri, materiale ceramice) asigură obținerea unor dispozitive de protezare a discului intervertebral calitativ superioare. Aceste dispozitive dispun atât de o fixare foarte bună datorată utilizării combinației metal-material ceramic ce conferă o rigiditate superioară comparativ cu alte materiale, cât şi de o mobilitate extraordinară conferită de utilizarea polimerilor şi elastomerilor ce se caracterizează prin indici de elasticitate foarte mici.

Frey şi Koch propun trei designuri diferite pentru discul artificial şi anume [1,9,12]:

Scanned with OKEN Scanner

a) un corp de forma unui rinichi din material sintetic acoperit cu o rețea multistratificată formată din fibre de titan ce îmbunătățește fixarea osoasă;

b) un inel convex din material plastic compresibil (poliuretan) având central o cavitate în care se introduce un fluid incompresibil cu variate valori ale vîscozității. Inelul este îmbrăcat intr-o rețea multistratificată de fibre de Ti;

c) material polimeric poros în interior plin cu lichid incompresibil fixat între două platouri de titan.

Khvisyuk propune un design similar cu cel de al doilea model tip propus de Frey şi Koch. Acesta a utilizat un elastomer pentru confecționarea inelului fibros, pe care l-a umplut apoi cu o soluție gel. Fixarea se realizează prin intermediul şuruburilor şi urechiuşelor de fixare de pe plăcile metalice ce acoperă superior şi inferior inelul [1,4,7].

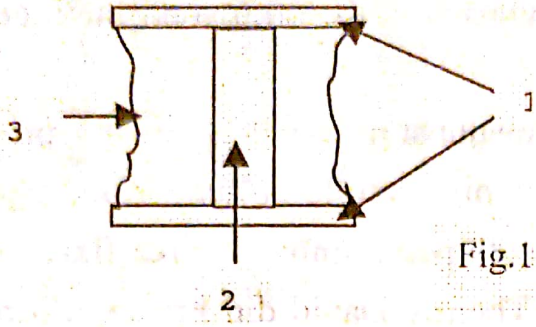
Fuhrman a utilizat un tub ondulat de formă circulară sau eliptică acoperit pe ambele parți (superior şi inferior) de două plăci metalice. Tubul este umplut cu un material vâscoelastic. Materialul este obținut prin introducere în tub a unui lichid polimerizabil. Mişcarea va fi posibilă ca urmare a formei ondulate a tubului şi a prezenței materialului vâscoelastic în interiorul său.

Pisharodi a proiectat un disc artificial care se compune din mai multe arcuri închise intr-o capsulă din silastic. După ce capsula a fost introdusă în spațiul intervertebral, în interiorul sau se va injecta aer, soluție salină sau ulei mineral pentru a asigura expandarea şi în final umplerea întregului spațiu protezat. Suprafața capsulei este plină de denivelari aciforme care contribuie la o fixare mai bună a implantului.

Main a creat o proteză dinamică a corpului vertebral care să poată înlocui un corp vertebral rezecat împreună cu cele două discuri intervertebrale adiacente. Proteza este alcatuită dintr-un cilindru metalic suspendat pe două placi. Cilindrul este acoperit la exterior de o camaşă elastică din cauciuc siliconic legată la cele două placi (figura 11). După implantare, dispozitivul este umplut cu ciment acrilic (spațiul dintre cilindru metalic şi cămaşa

Scanned with OKEN Scanner

siliconică) care să refacă forma corpului vertebral rezecat. Motilitatea este asigurată de cele două placi mobile [1,7].



1-plăci din cauciuc
2-cilindru metalic
3-cămaşă siliconică

Fig.11 Proteza Main

Specialiştii companiei AcroMed au realizat o a treia generaţie de proteze de disc intervertebral şi au început implantarea protezei în cadrul unei clinici private din Australia. Această proteză este similară cu cea patentată de Steffee în SUA. Acestă firmă a experimentat clinic dispozitivul de implantare la 6 pacienţi. Din cei 6 pacienţi s-au înregistrat două eşecuri datorate fracturării porţiunii centrale din caucic. Ansamblul protetic cuprinde o bază polimerică, o bandă laterală din fibra de C şi o porţiune centrală din cauciuc poliolefinic. Toate acestea sunt fixate prin vulcanizare la două plăci din Ti acoperite de un material ceramic poros. Patru ştifturi sub formă de con sunt utilizate pentru fixarea la os [1,2,4].

Compania Waldemar Link, lider european în producerea de proteze articulare totale propune o proteză totală de disc ajunsă la cea de-a treia generaţie numită Charite 3. Această proteză este compusă din două placi concave din aliaj Co-Cr şi care prezintă pe feţele exterioare cuie de fixare. Între plăci se găseşte o piesă din polietilenă cu formă de disc ce se potriveşte perfect în spaţiul dintre cele două plăci concave (figura 12) [3,6,12].

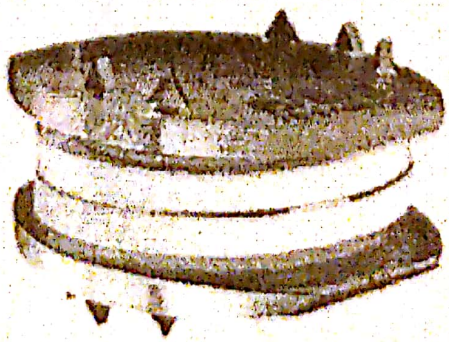


Fig.12: Proteza Charite III

Scanned with OKEN Scanner

În luna iunie 1999, Dr. Zippel a prezentat experiența negativă avută ca urmare a utilizării primelor două tipuri de proteze numite Charite 1 şi Charite 2 (figura 13). Dificultatea majoră a constat în fracturarea porțiunii centrale şi fixarea nesigură.

Pentru îndepartarea acestor neajunsuri cercetătorii au propus noi materiale pentu confecționarea porțiunii centrale şi acoperirea suprafețelor exterioare a plăcuțelor cu hidroxiapatită pentu îmbunatățirea fixarii de os. În cazul celei de a treia generații, Dr. Theirny David din Franța, afirma că din cei 174 de pacienți la care a implantat acest tip de proteză pe o perioadă de trei ani, 78% din pacienți au prezentat rezultate bune şi foarte bune [1,7].

Compania Aesculap propune o proteză de disc alcatuită din două plăcuțe de titan. Pe fața lor externă se pulverizează un strat de titan prin procedeul depunerilor in plasmă. Între cele două plăcuțe se află o portiune centrală de forma unui disc din polietilenă. Pe fața externă a celor două plăcuțe se găsesc două perechi de aripioare verticale pentru fixarea la corpii vertebrali (figura 14).

Figura 13: Proteza Charite I şi Charite II.

Dr.Tierry Marnay din Montpellier afirma că pe un lot de 50 de pacienți la care a implantat acest tip de proteză pe o perioadă de sapte ani, 78% din aceştia au avut rezultate bune.

Fig. 14 Proteza Aesculap

4. Proteza de nucleu pulpos

Dezvoltarea acestui tip de proteză a avut ca scop restabilirea funcționării normale a discului intervertebral cu păstrarea a cât mai multor componente naturale ale acestuia (inelul fibros) (figura 15) [7,9].

În 1966 Ulf Fernstron a inserat 191 de proteze de disc sub formă de bile din oțel inoxidabil. O singură bilă a fost implantată pentru fiecare unitate de segment mobilă. Inițial, rezultatele procedeului au părut promițătoare la doi ani de urmărire. Cu timpul numai 27% din pacienți au raportat o dispariție completă a durerii lombare, în comparație cu 73% care au reclamat o revenire a dureri. Dupa 4-7 ani , 88% din spațiile discale si-au pierdut excesiv înalțimea datorită afundării bilei de oțel în corpul vertebral.

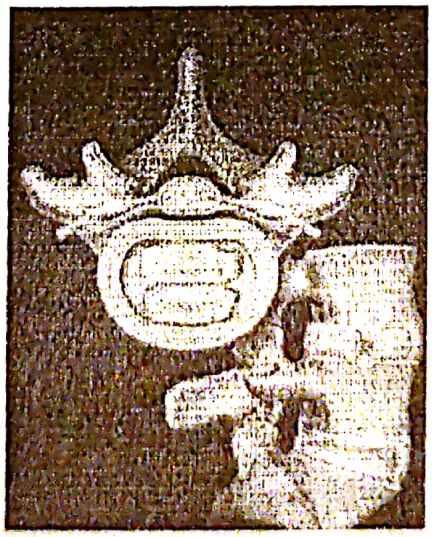


Fig.15 Protezarea nucleului pulpos

Scanned with OKEN Scanner

În aceiaşi perioadă cu implanturile realizate de către Fernstron, Paul Harmon din California şi Mc Kenzie din Canada au experimentat implantarea bilelor din oţel inoxidabil. În anul 1995, Mc Kenzie a comunicat o analiza retrospectivă pe o perioadă de 18 ani a 67 din cei 103 pacienţi protezaţi. Mc Kenzie a indicat că 95% din pacienţi s-au reîntors la serviciu, iar 83% din pacienţi relatau rezultate bune şi foarte bune. Totusi, acesta a abandonat procedeul la începuturile anilor '70 datorită complicaţiilor semnalate [8,9,10].

În 1974 Roy - Camille a injectat o soluţie de monomer siliconic realizând apoi o polimerizare în situ în spaţiul intradiscal.

Conceptul de proteze sferice a fost în mod curent experimentat de către Robert Biscut. În 1997 el a implantat 8 bile sferice la 5 pacieţi. În locul utilizării oţelului inoxidabil acesta a recurs la o bilă din fibră de carbon fabricată de către compania AcroMed. Biscup a postulat că modulul de elasticitate a fibrei de carbon va reduce posibilitate înfundării a bilei în corpul vertebral. După o perioadă de 20 de luni toţi pacienţii au reluat şi/sau au continuat activitaţile normale, incluzând sporturi, servicii şi diverse funcţii sociale. Nu a existat nici o evidenţă a migrării sferei şi dislocării din spaţiul intervertebral la nici un pacient.

Înfundări ale bilei în corpul vertebral au fost prezente în diverse grade la toţi pacienţii, dar segmentele spinale tratate au continuat să prezinte motilitate.

După realizarea unei nucleotomii, în anul 1988 Ray-Corbin a implantat în spaţiul intradiscal doi saci cilindrici din polietilenă de înaltă densitate (HDPE) umpluţi cu gel,. Rezultatele experimentului au fost foarte bune (figura 16) [8].

Compania Stryker Howmedica a dezvoltat un produs pe bază de hidrogel care este implantat printr-o tehnică minim invazivă, sub presiune, în spaţiul din interiorul discului intervertebral. Dispozitivul este de fapt un înlocuitor artificial al nucleului pulpos degenerat. Hidrogelul este implantat în stare parţial hidratată, urmând ca acesta să se întărească în aproximativ 48 de ore

Scanned with OKEN Scanner

de la injectare. Materialul hidrogelic este un alcool polivinilic cu un conținut de 81% apă.

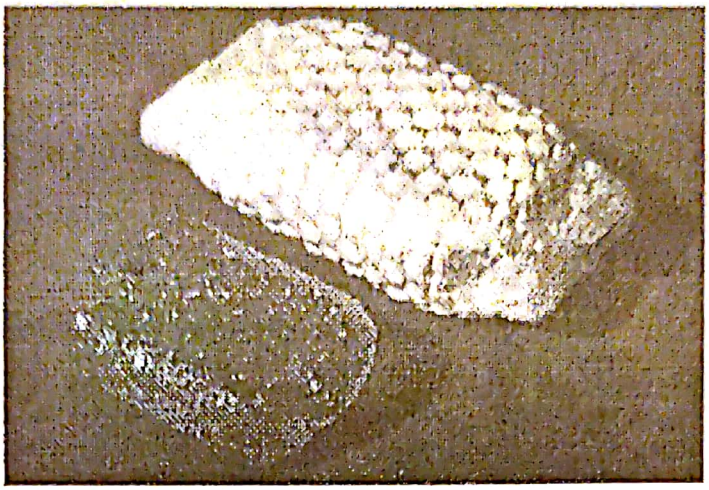


Fig.16 Proteza de nucleu pulpos Ray-Corbin

Compania Stryker Howmedica a dezvoltat un produs pe bază de hidrogel care este implantat printr-o tehnică minim invazivă, sub presiune, în spațiul din interiorul discului intervertebral. Dispozitivul este de fapt un înlocuitor artificial al nucleului pulpos degenerat.

Hidrogelul este implantat în stare parțial hidratată, urmând ca acesta să se întărească în aproximativ 48 de ore de la injectare. Materialul hidrogelic este un alcool polivinilic cu un conținut de 81% apă.

Testele biomecanice (rezistența la oboseală în cazul unei solicitări de 20-40 mil.cicli) la care a fost supus au evidențiat o comportare bun a acestui material. În cazul testelor biomecanice efectuate pe cadavru, produsul a prezentat o ușoară deteriorare atunci când este supus la încarcare pe timp îndelungat. În general hidrogelul a avut un comportament similar cu a nucleului pulpos natural.

La ora actuală, firma Stryker Howmedica încearcă testarea pe babuini a unei noi metode de introducere a hidrogelului în interiorul inelului fibros.

Aceste teste încearcă să rezolve problemele legate de pierderea de material apărute în perioada de 48 ore în care are loc întărirea hidrogelului [9,10].

Scanned with OKEN Scanner

Compania Sulzer Medica dezvoltă un proiect ce are ca obiectiv obținerea unui disc artificial. Cercetătorii companiei efectuează la ora actuală teste ale acestei proteze atât la animale cât şi pe subiecți umani, în cadrul Universitatii Rennes din Franța.

Produsul este confecționat dintr-un material elastomeric pe bază de policarbonat-uretan, are forma unui arc şi este implantat prin intermediul unui abord posterior (figura 17). Scopul acestui implant este de a menține funcția de absorbție a şocurilor de către discul intervertebral. Produsul pe bază de policarbonat-uretan are în compoziția sa un component cu proprietatea de "memorie a formei" care asigură încolăcirea acestuia sub formă de arc, după implantare.

Implantul are capacitatea de a absorbi o cantitate de apă în proporție de 3-5% din greutatea sa. Produsul a fost implantat la 10 pacienți în urmă cu 2 ani el fiind în continuare supus la noi teste biomecanice. Dezavantajele acestuia sunt reprezentate de leziunile provocate asupra musculaturii, țesuturilor colaterale şi elementelor posterioare ale coloanei vertebrale în timpul realizării implantării prin intermediul unui abord posterior [11].

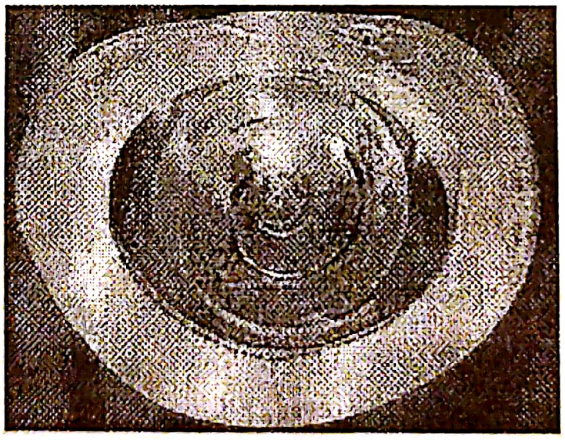


Fig.17 Proteza de nucleu pulpos Sulzer Medica

Compania RayMedica a lansat pe piață o proteză de nucleu pulpos ce a fost proiectată de către cercetatorul japonez Bao. Acesta a încercat nu numai

Scanned with OKEN Scanner

restabilirea proprietatilor mecaice ale nucleului ci şi a celor fiziologice. În acest scop Bao a realizat un nucleu artificial din hidrogel îmbrăcat într-o cămaşă poroasă de polimer care are capacitatea de a reţine apa (figura 18) [1,11].

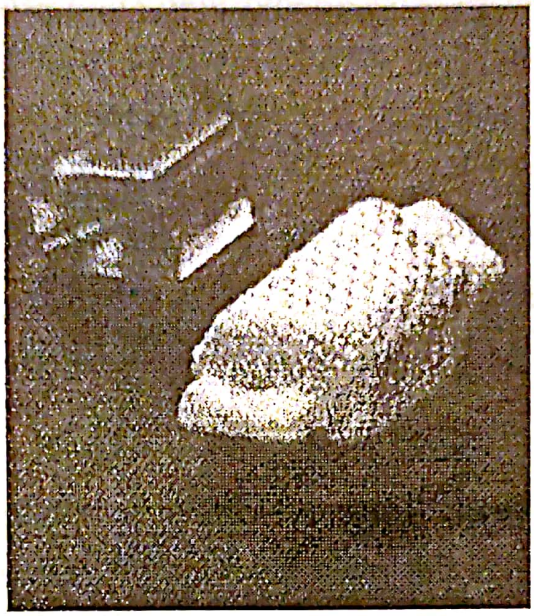


Fig.18 Proteza de nucleu pulpos RayMedica

Principalele tipuri de dezavantaje şi de complicaţii care apar în cazul protezării spaţiului intervertebral cu o proteză de disc artificial pot fi clasificate în trei categorii [10,11]:

a) Eşecuri datorate tehnicii de implantare:

- În cazul în care implantarea se face printr-un abord anterior:
  - leziuni ale vaselor iliace;
  - tromboză la nivelul vaselor iliace;
  - leziuni iritative ale nervului simpatic;
  - instalarea unor disfuncţii sexuale temporare.

- In cazul în care implantarea se face printr-un abord posterior:
  - leziuni ale musculaturii dorsale;

Scanned with OKEN Scanner

- leziuni ale țesuturilor colaterale;
- leziuni ale elementelor posterioare ale coloanei;
- leziuni ale rădăcinii nervoase corespunzătoare nivelului protezat.

b) *Eşecuri datorate elementelor anatomice implicate în protezare:*
- osteoliza corpului vertebral superior sau inferior discului protezat;
- fracturarea corpului vertebral superior sau inferior discului protezat;
- hernierea inelului fibros păstrat (în cazul utilizării unei proteze de nucleu pulpos);
- aderarea țesutului conjuctiv adiacent la arcurile protezelor de disc metalice.

c) *Eşecuri datorate protezei utilizate:*
- înfundarea plăcilor metalice în corpii vertebrali superior sau inferior (figura 22);
- alunecarea plăcilor metalice pe corpii vertebrali superior sau inferior (figura 19);
- fracturarea plăcilor metalice;
- ruperea dinților de fixare de pe suprafața plăcilor metalice;
- alunecarea discului polimeric central dintre cele două plăci metalice (figura 20);
- fracturarea sau deteriorarea discului polimeric, central (Fig.21);
- înfundarea bilelor utilizate pentru protezarea nucleului pulpos în corpii vertebrali;
- hernierea hidrogelului sau a materialului siliconic utilizat în protezarea nucleului pulpos la nivelul fisurilor inelului fibros degenerat;
- polimerizare incompletă a monomerilor utilizați în protezarea nucleului pulpos.

Scanned with OKEN Scanner

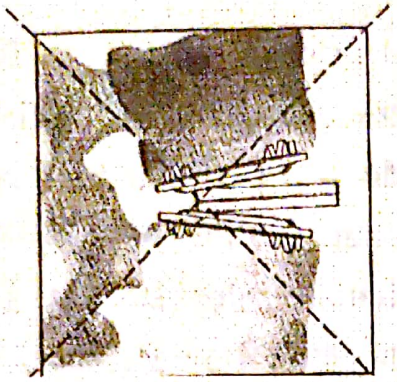


Fig. 20

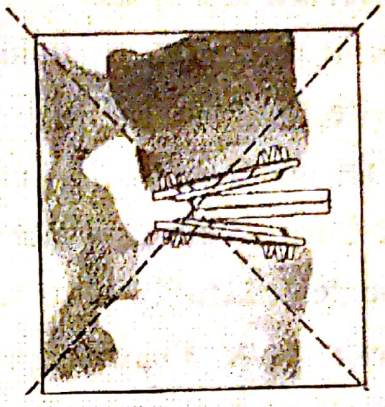


Fig.21

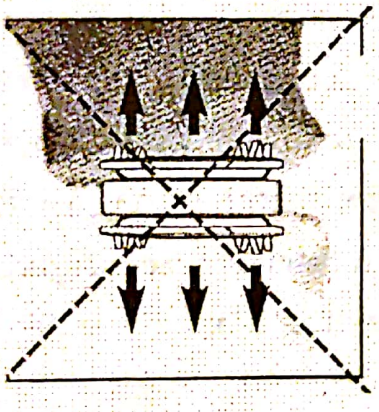


Fig.22

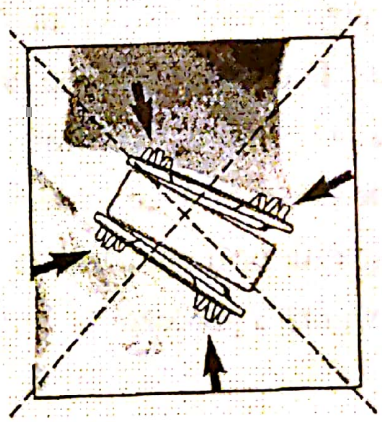


Fig. 19

5.Testări biomecanice ale sistemelor de protezare a articulației intervertebrale

5.1.Testarea protezei de disc intervertebral SB Charite III

Specialişti ai Institutului de Cercetare din Texas au realizat în cadrul programului de cercetare denumit "Ingineria Biomedicală a Articulației" o serie de teste biomecanice în vitro a articulației intervertebrale [3,6]. Scopul acestui studiu a fost cel de evaluare mecanică a mobilității unei proteze de disc intervertebral tip "Link SB Charite Model III" plasată la nivel intersegmentar L_4-L_5, proaspăt excizate de la cadavru şi apoi înghetate. Motilitatea intervertebrală obținută cu un disc artificial implantat la nivel L_4-L_5, a fost comparată cu cea nativă a unui disc disc intervertebral intact.

Scanned with OKEN Scanner

Materiale şi metode:

Pentru realizarea studiului s-a utilizat o proteză de disc artificial SB Charite de generaţia a treia. Această proteză cuprinde trei parţi: - două plăcuţe terminale fabricate din aliaj Co-Cr-Mo şi o parte centrală de formă eliptică, fabricată din polietilenă de înaltă densitate (HPDE).

Plăcuţele metalice au o suprafaţă de articulare internă concavă şi au o formă usor convexă la exterior pentru a simula cât mai bine curbura naturală a corpilor vertebrali şi pentru a permite o fixare cât mai bună la acestea. Fixarea sigură este asigurată şi de prezenta pe suprafaţa lor a şase dinţi de ancorare. Biocompatibilizarea mai bună a acestor plăcuţe metalice cu structura osoasă a corpilor vertebrali este realizată prin depunerea pe suprafaţa acestora a unui strat subţire de hidroxiapatită (HA). Acest strat de hidroxiapatită prin capacitatea sa de stimulare a osteogenezei asigură o fixare cât mai sigură a protezei la structurile osoase (figura 23).

Fig.23

Fig.24

Scanned with OKEN Scanner

Discul polietilenic central datorită formei sale biconvexe şi prezenţei unei margini plane terminată cu un guler înalt, asigură o fixare foarte bună între suprafeţele interne, concave ale celor două plăcuţe (figura 24). Aceasta parte centrală este de fapt un spaţiator care permite executarea de mişcări fără restricţii (mai puţin mişcări de translaţie), prevenind în acelaşi timp ejecţia sa dintre plăcuţele metalice.

Pentru experiment s-au utilizat cinci segmente mobile L_4-L_5 extrase de la cadavru şi apoi îngheţate. Aceste segmente articulare au fost evaluate biomecanic în fiecare din cele cinci moduri de testare nedistructive: extensie, flexie, înclinare laterală spre stânga, înclinare laterală spre dreapta şi torsiune.

Testele mecanice care folosesc metoda flexibilităţii au fost realizate cu ajutorul unui aparat special proiectat, care permite aplicarea unor momente de înclinare şi rotaţionale similare celor fiziologice normale şi care realizează cuple de mişcare fără nici o restricţie (figura 25). Aparatul permite dezvoltarea unor forţe de greutate crescătoare până când rezultă momente maxime de încarcare: 7Nm în rotaţie axială, 12Nm în flexie şi extensie şi 8Nm în înclinare laterală spre dreapta şi spre stânga. Datele de mişcare ale discului intervertebral sunt înregistrate cu ajutorul unui sistem de analiză 3D a mişcării. Unghiul de elasticitate (motilitatea la aplicarea unui moment de 1Nm) şi gradul total de mişcare au fost calculate pentru toate construcţiile (articulaţie L_4-L_5 normală şi articulaţie L_4-L_5 protezată) şi comparate statistic cu ajutorul unui sitem de calcul cu factori de corecţie Bonferroni.

Scanned with OKEN Scanner

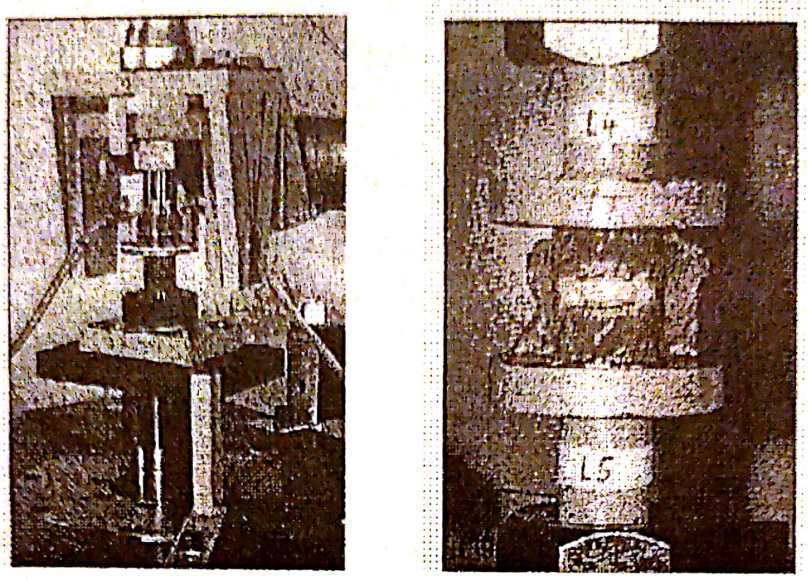


Fig. 25

Rezultate:

Testarea mecanică a fost realizată cu grijă pentru toate construcțiile spinale. Odată cu fixarea poziției şi calibrarea relativă a poziției cadrului, toate masurătorile privind mişcarea de rotație au fost raportate ca valori relative.

Datele privind gradul de motilitate au demonstrat un comportament similar în mişcare atât a probelor cu disc intervertebral intact cât şi al probelor cu disc intervertebral protezat. Unghiul mediu de elasticitate şi gradul total de mişcare pentru fiecare mod de testare sunt prezentate în tabelele 1 şi respectiv 2.

Analizele statice au demonstrat o creştere signifiantă a gradului total de mişcare pentru probele cu proteze de disc artificial, atât în flexie cât şi în extensie.

Toate celelalte comparații au fost nesignifiante (figurile 26, 27, 28).

Scanned with OKEN Scanner

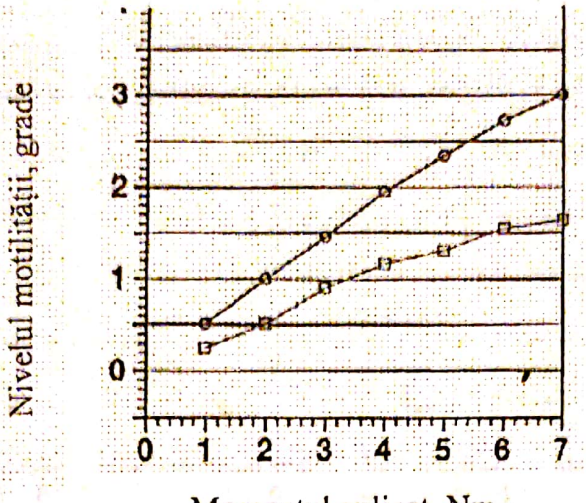


Fig.26 Reprezantarea grafică a gradului de motilitate pentru rotația axială într-un plan primar de mișcare (disc intact și disc artificial).

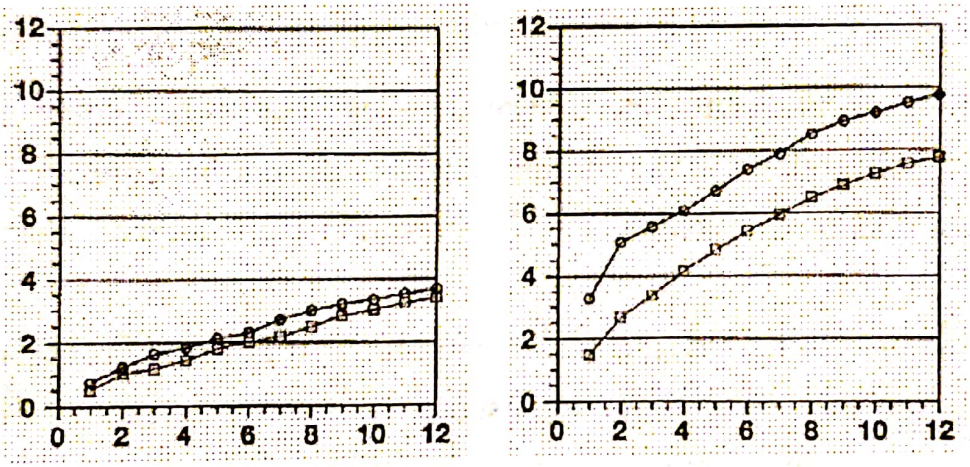


Fig.27 Reprezentări grafice a gradului de motilitate pentru extensia spre stânga și flexie spre dreapta într-un plan primar de mișcare (disc intact și disc artificial).

Discuții:

Din punct de vedere biomecanic nu a fost demonstrată nici o reducere a gradului de motilitate în cazul segmentelor vertebrale L_4-L_5 protezate cu o proteză de disc artificial SB Charite Model III față de motilitatea nativă a segmentelor vertebrale L_4-L_5 intacte. Totuși, menținerea unei motilități normale a segmentelor vertebrale protezate nu poate fi translată ca fiind valabilă pentru toate tipurile de designuri ale protezelor intervertebrale existente la ora actuală pe piață.

Scanned with OKEN Scanner

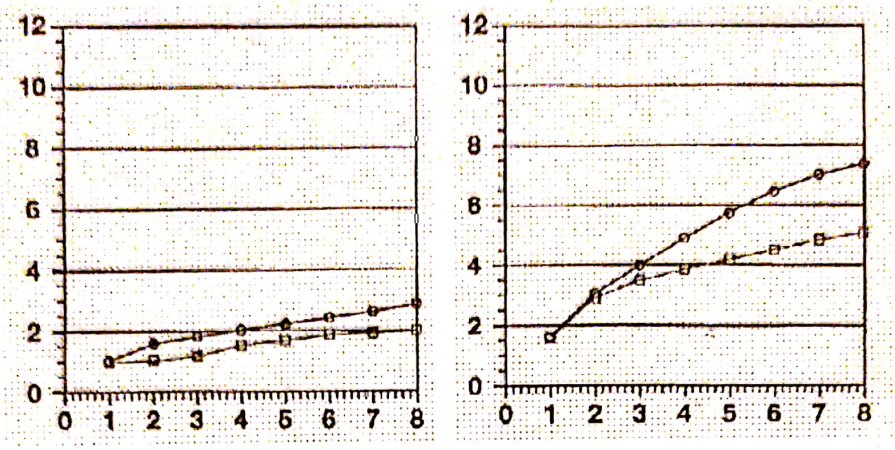


Fig.28 Reprezentari grafice a gradului de motilitate pentru înclinarea laterală spre stânga şi spre dreapta într-un plan primar de mişcare (disc intact şi disc artificial).

Bazându-ne pe rezultatele oferite de acest studiu, ne putem aştepta ca utilizarea unui model SB Charite de generația a treia la protezarea spațiului intervertebral să ofere performanțe clinice similare cu cele ale unei articulații normale.

Influențele clinice privind creşterea motiliăţtii în timpul rotației axiale şi flexiei nu sunt încă în totalitate cunoscute. Cu toate acestea, orice creştere a motilității poate îmbunătăți biomecanica unui segment vertebral ce are adiacent un disc intervertebral degenerat, determinând astfel o creştere a libertății de mişcare concomitent cu o reducere a senzației de discomfort şi durere.

Rezultatele acestui studiu demonstrează că proteza de disc intervertebral SB Charite Model III furnizată de firma Link se bucură de un grad de motilitate după implantare similar cu a discului intervertebral natural.

Rezultatele favorabile obținute indică faptul că menținerea unei motilități normale la nivelul segmentelor vertebrale protezate este o posibilă soluție terapeutică pentru diverse situații patologice degenerative, fără a fi necesară realizarea unei fuziuni intercorporeale.

Scanned with OKEN Scanner

5.2. Testarea protezei de nucleu pulpos RayMedica

Specialiştii firmei RayMedica [4,8] au realizat în cadrul centrului de cercetare "Institute for Spine and Biomedical Research" din USA o serie de teste a ultimului tip de proteză a nucleului pulpos propusă de această firmă (PDN RayMedica). Testarea în vitro a dispozitivului implantabil PDN RayMedica include testarea rezistenţei la oboseală pentru a determina dacă o integritate structurală suficientă poate fi menţinută pe întreaga durată de "viaţă" preconizată a implantului.

Determinarea parametrilor proprii unui implant de nucleu pulpos se realizează pentru toate tipurile de solicitări la încărcare apărute în diverse grade de mişcare (de la mişcări de înaltă frecvenţă şi joasă amplitudine – respiraţia, mersul; până la mişcări de joasă frecvenţă şi înaltă amplitudine – ridicări în picioare din poziţia şezând, sărituri pe vârfuri, etc.). Valorile solicitărilor la încărcare au fost stabilite ţinându-se cont de calculele realizate de către Nachemson (1966) şi Wilke (1996) privind presiunea intradiscală aparută în diverse situaţii. Aceste valori procentuale pot fi vizualizate în graficul de mai jos (figura 29).

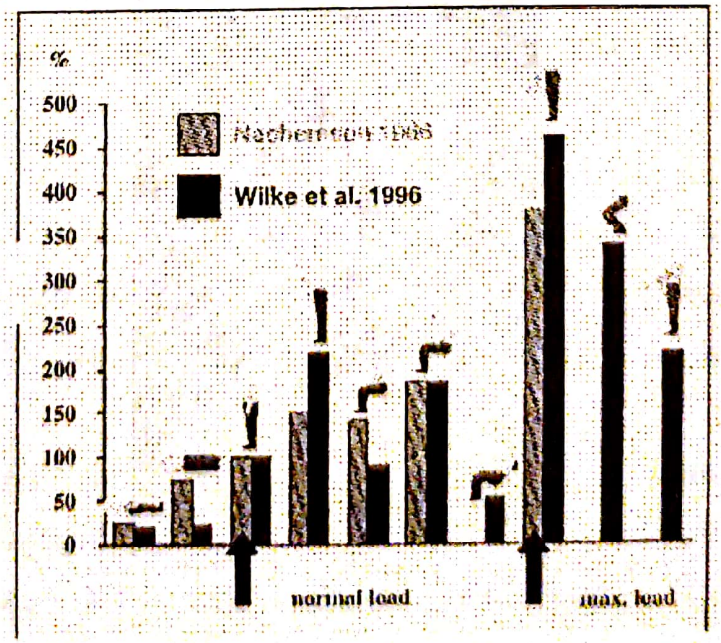


Fig.29

Maximul de încărcare (o forță de 2.700N după Nachemson și 4.140N după Wilke) a fost obținută în situația în care pacientul stă aplecat în față și ține în mână o greutate de 20 Kg). Valorile oferite de Wilke sunt probabil cele mai apropiate de adevăr, ținând cont de aparatura modernă utilizată de către acesta în măsurătorile presiunii intradiscale.

Toate aceste măsurători s-au realizat ținându-se cont de faptul că multe structuri ale corpului servesc la absorbția și disiparea acestor forțe, cum ar fi picioarele, mușchii trunchiului, articulații, etc.

Luând în considerare toate aceste aspecte, filosofia cercetătorilor companiei Ray Medica a fost de a testa integritatea structurală pe termen lung a unei proteze de nucleu pulpos artificial, supus la un mare număr de cicli de încărcare. Incărcările ciclice, sinusoidale au fost aplicate cu ajutorul unui dispozitiv de testare servo-hidraulic (Fig. 30).

Magnitudinile încărcării au fost determinate ca un multiplu al greutății corporale, utilizând valoarea de 200 lb (90Kg) ca bază de calcul. Incărcarea minimă a fost stabilită în condiții de repaos ca fiind 0.45 x greutatea corporală (90 lb, 40 Kg), iar cea maximă în condiții grele de activitate ca fiind 1.8 x greutatea corporală (360 lb, 164Kg).

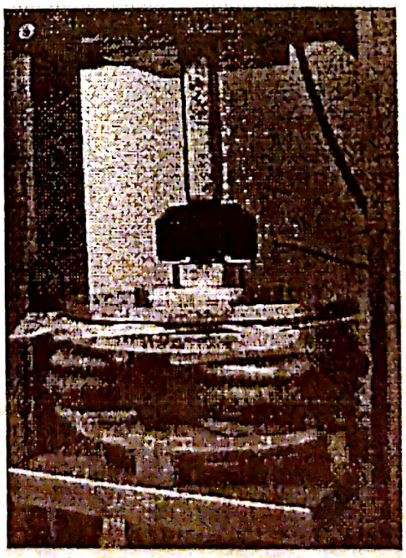


Fig.30 Dispozitiv de testare servo-hidraulic

Scanned with OKEN Scanner

Aceste extreme sunt întâlnite în mod obişnuit de câteva sute de ori pe zi pentru un pacient normal. Cinci milioane de cicli au fost aleşi ca limita maximă a acestui test. Aceasta reprezintă aproximativ 3400 cicli pe zi pentru o perioadă de 40 de ani, în care s-au inclus şi câteva încărcări maxime. Frecvenţa testării a fost de 4Hz.

Proteza artificială de nucleu pulpos testată a fost imersată într-o soluţie de apă şi agenţi antimicrobieni şi menţinută la temperatura corpului pe toată perioada testării. Fiecare probă a fost introdusă într-un săculeţ cu o mică cantitate din această soluţie şi menţinută astfel pe toată durata procesului de testare. La fiecare 10 milioane de cicli, probele au fost inspectate şi testate în ceea ce priveşte apariţia uzurii şi deteriorării, iar soluţia a fost analizată în ceea ce priveşte prezenţa unor particole polietilenice de degradare.

Rezultatele acestei testări au fost următoarele:

- nici un eşec structural al probelor analizate nu a fost evidenţiat;
- proprietăţile mecanice ale protezelor de nucleu pulpos artificial au fost găsite ca fiind în limite normale;
- conţinutul în particole de degradare (hidrogel, polietilenă) a soluţiei din săculeţul de analiză după 10 milioane de cicli a fost sub limita maximă admisă (< 50 particole per probă);
- după finalizarea testării probele şi-au păstrat aproximativă nemodificată forma iniţială.

Examinarea prezenţei particolelor de polietilenă a fost realizată prin filtrarea soluţiei din săculeţul de testare utilizând o seringă de 10ml şi o membrană de filtrare din policarbonat cu o mărime a porilor de 0,4 micrometri.

Filtrele şi particolele existente au fost analizate cu ajutorul microscopiei electronice în lumină polarizată. Cantităţile de particole găsite au fost comparate cu o mostră standard de fibre de polietilenă.

Scanned with OKEN Scanner

Concluzii:

După un istoric de aproape 50 de ani protezarea discului intervertebral pare să se impună pentru cazuri selectate de hernie de disc lombară sau de instabilitate vertebrală lombară ca o alternativă benefică față de simpla discectomie sau față de fixarea intercorporeală. Această performanță a fost posibilă prin alegerea biomaterialelor adecvate, confecționarea unei proteze care să restabilească proprietățile statice și dinamice ale discului intervertebral într-o formă cât mai apropiată de cea normală, dezvoltarea unei tehnici chirurgicale de implantare cât mai puțin traumatică.

Soluția ideală a conceptului de disc artificial nu va fi descoperită peste noapte, ea necesitând o dezvoltare graduală în timp.

Colaborarea strânsă între neurochirurg și bioinginerul medical intervenționist va avea o influență majoră în ceea ce privește pe de o parte găsirea unei soluții tehnologice cât mai bune pentru realizarea unui design cât mai apropiat de cel fiziologic, iar pe de altă parte descoperirea unor materiale și instrumentar cu calități superioare celor disponibile la ora actuală.

Marea complexitate a discului intervertebral din punct de vedere mecanic, fiziologic și degenerativ face ca protezarea spațiului intervertebral să creeze numeroase provocări atât pentru neurochirurgi cât și pentru bioinginerii medicali.

Bibliografie

1. Bao QB,. Mc Cullen G, Highon P A: *The artificial disc:Theory, design and materials*, Biomaterials, vol.17,nr. 12; 1996
2. Benini A: *Indications for single-segment Intervertebral prosthesis Implantation*, Revista di Neuroradiologia, vol. 12, Gennaio 1999
3. Link SB Charite: *Intervertebral endoprothesis*, Weldemar Link GmbH & Co., 241 en2.00; 1988

Scanned with OKEN Scanner

4. Langrana A.Noshira, Lee K.Casey: *Lumbosacral Spinal Fusion: Biomechanical and Clinical Considerations*, Spine Surgery,vol.10 nr.2, 1998
5. Poeata I: *Neurochirurgie şi elemente de bioinginerie neurochirurgicală*, Ed.Tehnica-Info Chişinău, 2000
6. Rapp SM: *After 10 years, surgeons find SB Charite disc suited for younger discopaty patiens*, Orthopedics Today, vol.2, nr. 6; 1999
7. Rapp SM: *Spinal fusion alternative: Device expands upon implantation, filling disc*, Ortopedics Today, , vol. 17, nr. 11; 1997
8. Ray C D: *Introduction to disc anatotomy and phisiology with enphasis on the generation of back pain*, Second Spine Group Meeting, Alexandria , Egypt, June 1998.
9. Rompe P. J. D., Schoenmayr R., Zoeller J: *Biomechanical behaviour of a prosthetic lumbar nucleus*, Acta Neurochir.,(Wien), 141, p. 1083-1087; 1999
10.Raymedica: *Polyethilene wear debris: Is it relevant to the Prosthetics Disc Nucleus*, vol.1, nr.1;
11.Schonmair R, Busch C, Lotz C, Lotz-Metz: Prosthetics G: *Disc nucleus implants: the Wisbaden feability study*, Revista di Neuroradiologia, nr.12, p 163-170; 1999
12.Viscogliosi AG,. Viscogliosi MR, Viscogliosi JJ: *Artificial disc. Market and tehnology*, Viscogliosi Bros., LLC, p 23-56; 1999
13.Viscogliosi A G: *Artificial disc to drive future spine market growth*, Orthopedics today, vol.18, nr. 10; 1998

Scanned with OKEN Scanner

II

Biomateriale utilizate în oftalmologie. Lentilele intraoculare.

Cristina Daniela LOSPA, Daniela Lorena RUSU

CUPRINS

1. Introducere 36

2. Lentile intraoculare. Clasificare. Biomateriale. 39
2.1. Biomateriale utilizate pentru lentilele intraoculare 41
2.1.1. Polimetacrilatul de metil 45
2.1.2. Biomateriale pentru lentile intraoculare foldabile 47
2.2. Biomateriale utilizate pentru partea haptică 52
2.3. Metode de sterilizare 53
2.4. Avantaje şi dezavantaje ale biomaterialelor utilizate 54

3. Biocompatibilitatea lentilelor intraoculare. Opacifierea capsulei posterioare. 56

4. Modele de lentile intraoculare 59

5. Calculul puterii dioptrice a lentilei intraoculare 63

6. Perspective privind lentilele intraoculare 64

Bibliografie 67

Scanned with OKEN Scanner

Biomateriale utilizate în oftalmologie. Lentilele intraoculare

Cristina Daniela LOSPA, Daniela Lorena RUSU

1. Introducere

Omul primeşte majoritatea informaţiilor despre mediul extern prin intermediul analizatorului optic, format din globul ocular, calea optică şi centrii corticali de integrare a văzului. Din punctul de vedere al fizicii, ochiul este aparatul optic primar, în absenţa căruia optica ar fi de neconceput [1]. Folosirea celorlalte aparate optice concepute de om este justificată numai în măsura în care aparatul optic primar funcţionează normal.

Ochiul poate fi echivalat cu o cameră fotografică pentru că are un sistem de lentile, un sistem cu deschidere variabilă (pupila) şi retina, care corespunde filmului fotografic [2].

Sistemul de lentile al ochiului se compune din patru interfeţe care refractă lumina:

- interfaţa dintre aer şi suprafaţa anterioară a corneei;
- interfaţa dintre faţa posterioară a corneei şi umoarea apoasă;
- interfaţa dintre umoarea apoasă şi suprafaţa anterioară a cristalinului;
- interfaţa dintre suprafaţa posterioară a cristalinului şi umoarea vitroasă.

Dacă puterea optică a ochiului ar fi constantă, pe retină s-ar forma numai imaginile obiectelor aflate la o distanţă fixă faţă de ochi. Pentru a putea forma imagini ale obiectelor distribuite aleator în spaţiu, este necesar ca puterea optică a ochiului să poată fi variată. Acest lucru se realizează prin modificarea curburii cristalinului. Mecanismul prin care cristalinul îşi modifică geometria şi implicit convergenţa poartă numele de acomodaţie.

Scanned with OKEN Scanner

Modificările patologice ale cristalinului constau în principal în tulburări de transparență (cataracta) și anomalii de poziție (ectopii, subluxații, luxații).

Cataracta reprezintă tulburarea progresivă a transparenței cristaliniene, fiind singurul mod de reacție al cristalinului la agresiunea factorilor interni sau externi. Evoluția ei duce la scăderea acuității vizuale.

Cataracta este estimată ca fiind pe primul loc între afecțiunile ce provoacă orbirea; sunt aproximativ douăzeci de milioane de cazuri pe întreg globul [3].

Numai în Statele Unite se efectuează în jur de 1,6 milioane de operații de extragere a cataractei, pe an [4]. Pentru cataractă nu există un tratament medicamentos. Mai mult, cataracta senilă pare a fi o consecință fiziologică a procesului de îmbătrânire iar o funcție vizuală adecvată rămâne unul dintre cele mai importante aspecte ale vieții umane, indiferent de vârstă sau cu atât mai mult la o vârstă înaintată.

Tehnica chirurgicală cea mai performantă utilizată în prezent pentru extragerea cataractei este facoemulsifierea. Aceasta reprezintă o tehnică extracapsulară, conținutul capsulei cristalinului fiind emulsifiat cu ajutorul ultrasunetelor și apoi îndepărtat, păstrându-se capsula posterioară. Avantajul principal al acestei tehnici este dimensiunea redusă a inciziei necesare.

În urma operației de extragere a cataractei, ochiul pierde o mare parte din puterea sa de refracție. Această deficiență este înlăturată în prezent prin implantarea unei lentile intraoculare, în locul cristalinului îndepărtat. Gradul de reabilitare a funcției vizuale depinde de performanțele acesteia, respectiv de măsura în care implantul utilizat reușește să îndeplinească rolurile fiziologice ale cristalinului natural. Pentru acest tip de implant se folosesc termeni cum ar fi: *cristalin artificial, lentilă intraoculară, implant de cristalin.*

Pentru a denumi ceea ce se folosește în prezent în chirurgia cataractei în vederea corectării consecutive a puterii dioptrice a ochiului, cea mai adecvată este terminologia engleză: *lentilă intraoculară* (intraocular lens – IOL). În

Scanned with OKEN Scanner

acest fel se arată că implantul de acest tip (lentila intraoculară monofocală) îndeplineşte funcţia de lentilă convergentă a cristalinului, substituind puterea dioptrică a acestuia. Este vorba de un implant şi nu de o proteză întrucât este substituită o funcţie a unei structuri biologice (cristalin) din cadrul unui organ complex (globul ocular).

Mai mult, designul lentilelor intraoculare îşi propune substituirea funcţiei şi nu a structurii biologice a cristalinului. Chiar şi lentilele intraoculare multifocale – care încearcă reabilitarea mecanismului acomodativ al globului ocular, ce nu mai poate fi realizat după îndepărtarea cristalinului – realizează acest lucru prin designul lor special şi nu prin "reactivarea" mecanismului natural, care implică şi alte structuri decât cristalinul, respectiv corpul ciliar şi ligamentele zonulare. În prezent, marea provocare în protezarea cristalinului (vorbind de protezare în sensul substituirii funcţiei fiziologice a acestuia) este tocmai reabilitarea cât mai performantă a mecanismului acomodativ.

Termenul de *cristalin artificial* este oarecum impropriu atunci când se referă la lentilele intraoculare folosite în prezent. Cristalinul artificial ar putea fi definit ca o structură concepută pentru a substitui atât din punct de vedere funcţional cât şi structural cristalinul biologic, integrându-se în topografia globului ocular, similar acestuia şi realizând aceleaşi performanţe fiziologice.

Un cristalin artificial, conform cu această definiţie, nu a fost deocamdată realizat. Am putea spune că, deşi cristalinul artificial va fi în acelaşi timp şi o lentilă intraoculară (ceea ce este din punct de vedere fiziologic şi cristalinul biologic), lentila intraoculară folosită în prezent nu este un cristalin artificial. Termenul se foloseşte însă în sens generic pentru orice încercare în această direcţie, chiar dacă realizează numai parţial premizele cristalinului artificial [5].

Scanned with OKEN Scanner

2. Lentile intraoculare. Clasificare. Biomateriale.

După cum sugerează şi numele, acest tip de implant se foloseşte pentru a focaliza razele de lumină, în aceeaşi manieră în care o face şi cristalinul biologic, care din punct de vedere funcţional este o lentilă biconvexă. Sunt confecţionate din polimeri sintetici care prezintă proprietăţi optice adecvate acestui scop, în principal transparenţă şi indice de refracţie adecvat (polimetacrilat de metil, copolimeri acrilici, hidrogeluri acrilice, elastomeri siliconici). Se implantează în interiorul globului ocular, în acelaşi loc în care se găsea lentila cristaliniană (între cornee şi vitros).

Structural, lentilele intraoculare prezintă două componente (fig. 1): o componentă *optică*, cea al cărei rol este de a refracta lumina şi o componentă *haptică*, de prindere (în limba greacă haptein – a prinde). Aceasta din urmă este necesară pentru a fixa lentila, asigurându-i stabilitatea necesară îndeplinirii funcţiei sale optice.

Din punctul de vedere al locului de inserţie, lentilele intraoculare se clasifică în *lentile de cameră anterioară*, *lentile cu fixare pupilară* şi *lentile de cameră posterioară* (fig. 2). În practica oftalmologică s-au impus lentilele intraoculare de cameră posterioară, deoarece produc mai puţine complicaţii. Acestea se folosesc în aproximativ 95 % din cazuri [6].

Lentilele cu fixare pupilară (fig. 2a), care se "prind" cu partea haptică de iris au o utilizare limitată, prezentând doar interes istoric [6]. Lentilele de cameră anterioară (fig. 2b) au un procent crescut de complicaţii (sindromul uveită-glaucom-hipemă), lucru uşor de înţeles având în vedere anatomia şi fiziologia camerei anterioare şi importanţa unghiului camerular.

Plasarea lentilelor în camera posterioară (fig. 2c), fixate fie în şanţul ciliar fie în sacul capsular, corespunde din punct de vedere topografic cu "fosta" amplasare a cristalinului, în aşa fel încât vor avea aceleaşi relaţii de vecinătate cu restul structurilor oculare, ca şi acesta.

Scanned with OKEN Scanner

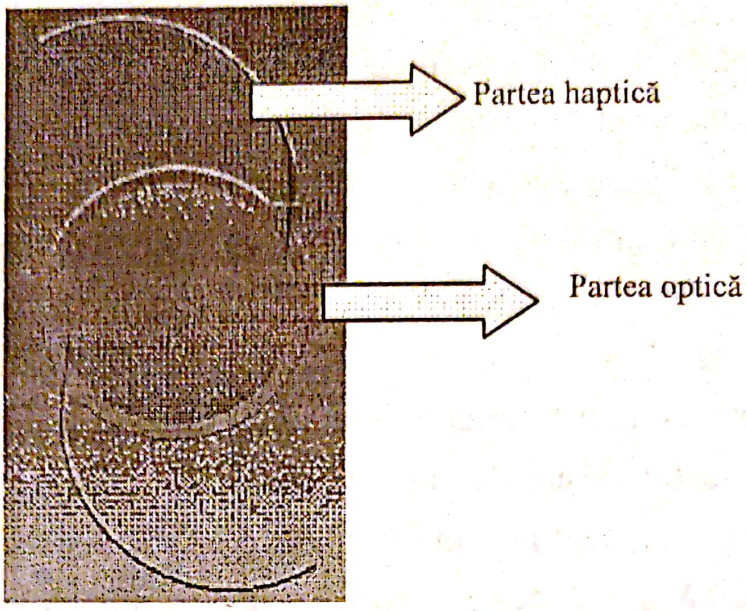
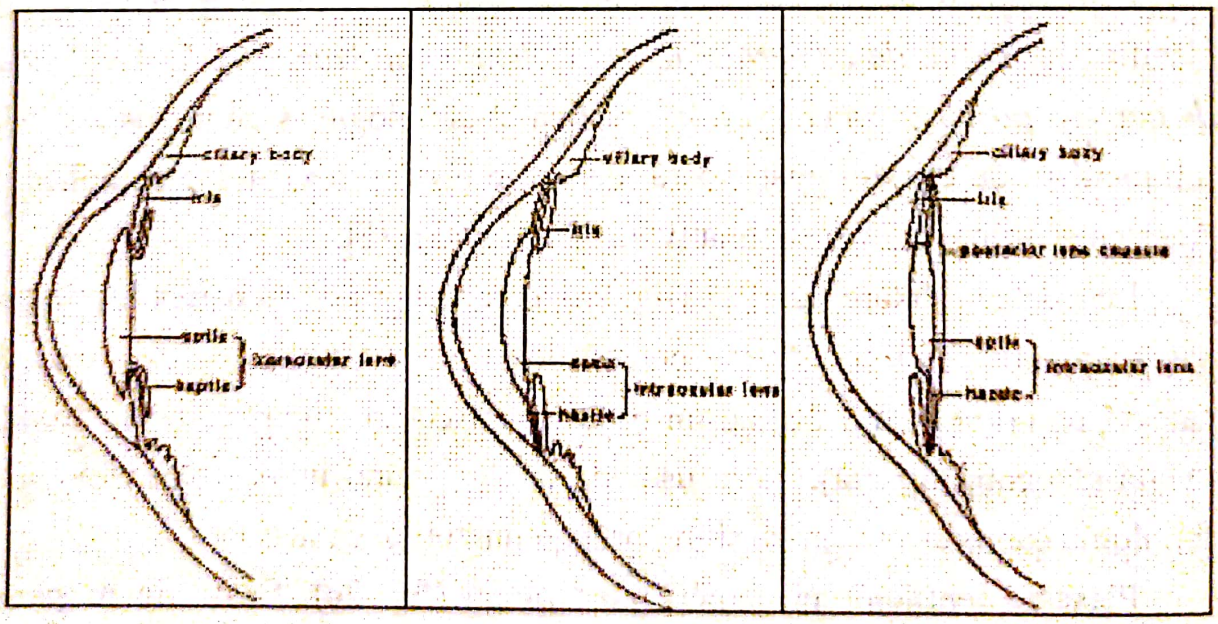


Fig. 1 Componentele unei lentile intraoculare [7]



a b c

Fig. 2 Tipuri de lentile intraoculare [8]: a. lentilă cu fixare pupilară; b. lentilă de cameră anterioară; c. lentilă de cameră posterioară

Scanned with OKEN Scanner

Lentila intraoculară, odată implantată, devine parte componentă a dioptrului ocular. Puterea sa dioptrică este aleasă în funcție de ceilalți parametri ai acestuia astfel încât per ansamblu să se obțină refracția dorită, în general cât mai aproape de emetropie [9,10].

Designul lentilei intraoculare trebuie să-i asigure acesteia în primul rând o fixare corectă, cât mai eficientă, astfel încât postoperator lentila să nu se deplaseze, descentrându-se [11].

În prezent există foarte multe variante de design, care nu însă duc la diferențe mari din punct de vedere al rezultatelor clinice postoperatorii. Mai mult, este dificil să se facă corelații între un design dat şi anumite potențiale beneficii, având în vedere complexitatea factorilor care intervin. Totuşi, în măsura în care după implantare apar şi alte evenimente care influențează funcția optică a lentilei, cum ar fi opacifierea capsulei posterioare, s-a încercat eliminarea acestor aspecte negative şi prin modificări inspirate aduse designului.

2.1. Biomateriale utilizate pentru lentilele intraoculare

Dincolo de forma şi dimensiunile lentilei intraoculare, din punctul de vedere al implantologiei, foarte important pentru comportarea optimă a acesteia ca subansamblu de natură sintetică şi nu biologică al dioptrului ocular, este **biomaterialul** din care este realizată. Natura acestuia influențează în mare măsură răspunsul organismului şi relația care se stabileşte între sistemul biologic şi implant.

Dacă la început s-a crezut că polimetacrilatul de metil (PMMA), materialul "standard" pentru lentilele intraoculare, este inert din punct de vedere biologic, investigații amănunțite făcute în acest sens au dovedit că nu este aşa [4,11,12]. Între implant şi organism se stabileşte o relație complexă, a cărei semnificație nu este pe deplin înțeleasă.

Scanned with OKEN Scanner

Cele mai importante proprietăți legate de interacțiunea cu organismul sunt cele legate de suprafață. Acestea determină gradul de aderare și proliferare celulară, influențează aderarea și depozitarea macromoleculelor biologice. Toate aceste aspecte influențează **biocompatibilitatea** lentilei, respectiv a biomaterialului din care este aceasta este realizată. Prin biocompatibilitate înțelegem faptul că interacțiunea unui biomaterial cu organismul trebuie să aibă loc în așa fel încât să nu existe efecte negative pentru acesta și nici să nu aibă loc "evenimente" biochimice, fiziologice sau de altă natură biologică care să altereze sau să împiedice realizarea funcției implantului.

Dincolo de proiectarea caracteristicilor necesare funcției sale optice, în cazul lentilei intraoculare trebuie avute în vedere și diferitele "scenarii" post-implantare. Implantul devine un "actor" important în mediul ocular și trebuie să se țină cont de toate potențialele implicații asupra țesuturilor vecine, în special asupra barierei hemato-umorale și a endoteliului corneean. Implantul nu trebuie să afecteze negativ fiziologia globului ocular și în același timp trebuie să prezinte, la rândul lui, un anumit grad de "imunitate" față de mediul biologic, atât de complex și de divers din punct de vedere molecular și celular.

Există o serie de **criterii de bază** care trebuie îndeplinite de către orice lentilă intraoculară [3]. Astfel, aceasta trebuie să fie:

- satisfăcătoare din punct de vedere optic;
- inertă și netoxică;
- biocompatibilă;
- ușoară;
- rezistentă și durabilă din punct de vedere structural;
- rezistentă la tratamentul cu laser (în eventualitatea unei capsuletomii);
- să absoarbă radiațiile ultraviolete;
- ușor de implantat; fixarea să fie sigură (să nu se descentreze);

Scanned with OKEN Scanner

- să permită o sterilizare eficientă, care să nu-i modifice proprietățile.

Cele mai multe dintre aceste criterii sunt îndeplinite prin prisma proprietăților biomaterialelor din care sunt fabricate lentilele intraoculare. De fapt, însuşi conceptul de lentilă intraoculară a apărut în strânsă legătură cu descoperirea unui anumit tip de material ale cărui proprietăți s-au dovedit a fi compatibile cu ideea de implanturi intraoculare. Harold Ridley, chirurg englez, în timpul celui de-al doilea război mondial, a observat absența sau o prezență minimă a inflamației oculare la piloții cu traume produse de fragmente de sticlă organică din structura avioanelor de luptă [3,12,13]. Sticla organică, în speță PMMA, dovedea astfel că este foarte bine tolerată de sensibilele țesuturi oculare.

Oportunitatea acestei observații, combinată cu performanțele optice ale polimerului, l-au "transformat" în biomaterialul de elecție pentru realizarea lentilelor intraoculare [3,4,11,13,14]. Comportarea clinică pe termen lung, rezultatele optice foarte bune în reabilitarea vederii şi numărul mare de cazuri, respectiv experiența dobândită de-a lungul anilor cu acest biomaterial sunt aspecte care îi asigură în continuare "longevitatea" în acest domeniu. În consecință, orice materiale noi pentru lentile intraoculare, concepute fie în ideea îmbunătățirii rezultatelor obținute cu PMMA, fie în vederea obținerii unor avantaje pe care acesta nu le oferă, sunt acceptate numai în măsura în care comparația cu PMMA nu îi este defavorabilă.

Biomateriale noi au fost folosite odată cu apariția conceptului de **lentilă intraoculară foldabilă**. O dată în plus, îmbunătățirea tehnicii chirurgicale a impus modificarea cerințelor în ceea ce priveşte proprietățile biomaterialelor implicate în realizarea de implanturi pentru acel domeniu. Astfel, apariția facoemulsifierii, tehnică ce necesită o incizie de numai 3 mm pentru extragerea cataractei, a oferit un avantaj enorm din punctul de vedere al reducerii caracterului invaziv al manevrei chirurgicale. Acest avantaj este însă anulat în momentul introducerii unei lentile intraoculare clasice, din

Scanned with OKEN Scanner

PMMA. Incizia realizată pentru facoemulsifiere trebuie lărgită până la 10 mm, pentru a permite implantarea şi reabilitarea consecutivă a vederii [13]. De aceea s-a pus problema realizării unei lentile care să poată fi introdusă printr-o incizie de 3 mm, respectiv găsirii unui biomaterial care să permită plierea lentilei, introducerea acesteia şi apoi deplierea, fără ca acest proces să afecteze negativ proprietăţile mecanice şi optice ale lentilei. Soluţia a fost oferită de biomaterialele din care se realizau deja lentilele de contact, deoarece acestea aveau proprietăţi optice adecvate, biocompatibilitate dovedită şi, în plus, flexibilitate. Astfel, pentru lentilele intraoculare foldabile se folosesc elastomeri siliconici, hidrogeluri pe bază de polimetacrilat de 2-hidroxietil (PHEMA), alţi copolimeri acrilici [4,13].

Apariţia lentilelor intraoculare foldabile a impus o clasificare a lentilelor intraoculare în funcţie de caracteristicile materialului din care sunt realizate. Astfel, lentilele intraoculare pot fi *dure (hard)* sau *moi (soft)* – dure când sunt fabricate din PMMA şi moi când este vorba de lentilele foldabile [4,13].

Diferite studii au comparat aceste noi biomateriale cu PMMA. Rezultatele lor nu au evidenţiat aspecte care să le subclasifice faţă de acesta, dar nici nu au prezentat aspecte care să le recomande în mod absolut [11,15]. Singurul avantaj clar al acestora, faţă de PMMA, este cel al flexibilităţii lor. În rest, ceilalţi parametri ai comportării pe termen lung - optic, mecanic şi din punct de vedere al biocompatibilităţii - nu diferă în măsură semnificativă de cele ale PMMA. În plus, indiferent de materialul din care sunt realizate lentilele intraoculare, principala lor complicaţie rămâne opacifierea capsulei posterioare. Interpretarea rezultatelor studiilor clinice realizate până în prezent este dificilă întrucât nu s-a decis încă o serie de parametrii standard care să fie cuantificaţi, ceea ce face ca cercetările realizate să ducă la concluzii complet diferite.

Parcurgerea unei bibliografii suficient de ample în domeniu arată că nu există indicaţii absolute pentru un anume biomaterial. Dimpotrivă, starea de lucru actuală, respectiv identificarea avantajelor şi dezavantajelor fiecărui

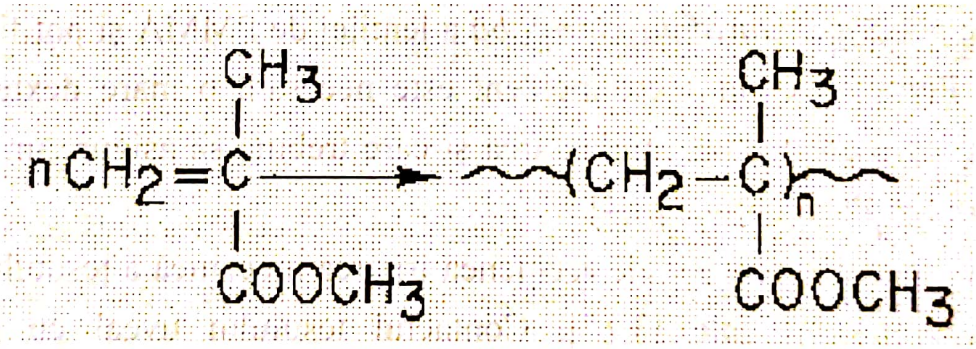
Scanned with OKEN Scanner

biomaterial, reprezintă o premiză favorabilă atât pentru rezolvarea problemelor ridicate de fiecare dintre acestea, cât şi pentru producerea unor noi biomateriale, mai performante.

2.1.1. Polimetacrilatul de metil

Întrucât a fost primul material utilizat pentru fabricarea lentilelor intraoculare, PMMA are cea mai lungă "istorie" în domeniu. Prin urmare şi validarea proprietăţilor sale din punct de vedere optic şi al comportării intraoculare este mult mai bine documentată şi studiată. Acest aspect asigură în continuare încrederea în utilizarea PMMA în detrimentul unor materiale mai noi, a căror utilizare nu a fost suficient investigată.

Polimetacrilatul de metil este unul dintre cei mai cunoscuţi polimeri acrilici şi rezultă prin polimerizarea metacrilatului de metil, conform următoarei reacţii de principiu:



PMMA este un polimer amorf cu structură în general liniară. Este rigid, uşor, cu o mare stabilitate în timp, capabil să reziste până la temperaturi de 80°C. Claritatea şi transparenţa produselor este foarte bună. Are un indice de refracţie de 1,49 [16].

Polimetacrilatul de metil constituie cea mai cunoscută "sticlă organică", deoarece permite trecerea a 99% din radiaţia solară, depăşind chiar sticla obişnuită, şi pentru că este transparent pentru partea UV a spectrului. Această transparenţă însă la radiaţiile UV devine un inconvenient în cazul utilizării

sale pentru obținerea de lentile intraoculare, din cauza nocivității lor față de retină [8]. Pentru comparație, cristalinul biologic nu permite trecerea luminii cu lungimi de undă mai mici de 400nm, iar corneea opreşte radiațiile luminoase cu lungimi de undă sub 300nm. Transparența lentilelor pe bază de PMMA fată de radiațiile UV poate fi modificată prin adăugarea în polimer a unor molecule absorbante de radiații UV şi fixarea acestora prin legături covalente.

Deşi considerat biomaterial "standard" pentru realizarea lentilelor intraoculare, utilizarea PMMA nu este însă lipsită de probleme. Acestea sunt datorate în primul rând *energiei sale de suprafață relativ scăzute* [4]. Aceasta poate determina atât leziuni ale endoteliului cornean, la inserție, cât şi adeziunea postoperatorie de celule inflamatorii la suprafața lentilei.

Deşi nu este toxic, PMMA-ul este foarte nociv față de endoteliul cornean, dacă intră în contact cu acesta în timpul implantării. Celulele endoteliale aderă pe *suprafața hidrofobă* a lentilei de PMMA şi pot fi efectiv "smulse". Pentru a evita acest incident este necesară o mare dexteritate a chirurgului care efectuează implantarea şi care trebuie să asigure un contact minim între lentilă şi cornee [3,4].

PMMA poate determina de asemenea iritarea mecanică a țesutului uveal din cauza *rigidității* sale [3,17]. Contactul țesutului uveal cu lentilele intraoculare din PMMA determină adesea o reacție inflamatorie prelungită, care poate conduce la aderarea irisului la lentilă, uveite, distrugerea barierei retino-sangvine cu edem macular şi pierderea vederii [4].

Pentru a îmbunătăți comportarea lentilelor din PMMA, au fost luate în considerare mai multe variante [4]:

- modificarea procesului tehnologic de obținere în vederea realizării unor suprafețe foarte netede;

Scanned with OKEN Scanner

- generarea unor suprafețe "moi" de înaltă energie pe bază de poli-N-vinil pirolidonă sau PHEMA;
- generarea unor suprafețe "dure" de joasă energie;
- modificarea suprafeței lentilei cu heparină sau acid hialuronic;
- generarea de suprafețe polimerice pe bază de fosforilcolină, care reduc adsorbția proteinelor, adeziunea celulară și activarea neutrofilelor cât și depunerile celulare in vivo.

PMMA pune probleme și în legătură cu *sterilizarea*. Astfel, acest material nu poate fi sterilizat prin autoclavare deoarece are o temperatură de tranziție vitroasă relativ scăzută (T_g = 100°C). El poate fi sterilizat fie cu etilenoxid, care este toxic, fie cu soluții de hidroxid de sodiu. Spre deosebire de autoclavare, aceste două metode de sterilizare prezintă anumite riscuri [3,8,17] (vezi și § 2.1.4.). De aceea s-a încercat obținerea unor noi materiale pentru lentile intraoculare care să permită autoclavarea.

Dintre materialele care îndeplinesc această condiție și care au fost investigate în acest scop amintim [3]:

- polimeri termoplastici aromatici amorfi, cu temperatură de tranziție vitroasă foarte ridicată (policarbonați, polietersulfone, poliimide);
- rețele polimerice (elastomeri siliconici hidrofobi, hidrogeluri pe bază de PHEMA).

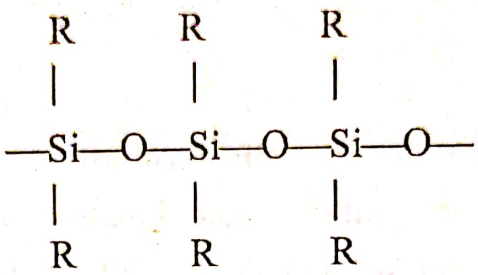
2.1.2. Biomateriale pentru lentile intraoculare foldabile

În momentul în care a apărut necesitatea realizării unor lentile intraoculare foldabile, s-a apelat în primă instanță la biomateriale care aveau proprietăți elastice și care erau folosite în alte aplicații din sfera bioingineriei medicale [4,13,18]. Astfel, hidrogelurile pe bază de PHEMA se foloseau pentru realizarea de lentile de contact, iar elastomerii siliconici pentru implanturi mamare sau pentru protezarea articulațiilor.

Scanned with OKEN Scanner

Termenul de polimeri siliconici se referă, din punct de vedere chimic, la clasa poliorganosiloxanilor, obținuți prin policondensare.

Poliorganosiloxanii au următoarea structură chimică (cu R fiind notați radicalii organici de tip metil, fenil, vinil etc.):



Chiar dacă există o mare varietate de polimeri siliconici, aceştia posedă o serie de proprietăți comune care îi deosebesc de alte materiale, şi anume [19]:

- stabilitate termică şi oxidativă până la 260°C şi chiar mai mult;
- proprietăți optime la temperaturi joase, păstrându-şi flexibilitatea, elasticitatea şi fluiditatea până la circa - 80°C;
- caracteristici de neaderență;
- inerție chimică, rezistență la lumina solară, la îmbătrânire, la acțiunea ozonului şi la radiații;
- proprietăți hidrofobe interesante.

Hidrogelurile reprezintă rețele macromoleculare tridimensionale care rețin cantități mari de apă, fără dizolvare. Conținutul ridicat de apă determină proprietățile mecanice, de difuzie şi absorbție ale hidrogelurilor, conferindu-le capacitatea de a "mima" țesuturile vii.

Modul de structurare al apei, dependent de compoziția hidrogelului, influențează interacțiunile biologice. Astfel, apa din hidrogeluri poate fi polarizată în jurul sarcinilor ionice, orientată spre dipoli, structurată în vecinătatea grupelor hidrofobe sau îmbibată în pori.

Scanned with OKEN Scanner

Hidrogelurile se obțin din amestecuri de monomeri sau de monomeri și polimeri, prin reacții de modificare chimică și aplicarea unor tehnici de prelucrare care asigură o structură adecvată, o concentrație optimă de apă și proprietăți mecanice corespunzătoare.

Majoritatea monomerilor utilizați pentru sinteza hidrogelurilor sunt hidrofili. Prin copolimerizarea unor monomeri hidrofili și hidrofobi se obțin hidrogeluri cu rezistența mecanică mărită.

Transformarea polimerilor în hidrogeluri implică conversia unor grupe funcționale în grupări hidrofile (hidroxilice sau carboxilice), modificarea polietilenglicolilor prin condensare cu diizocianați, realizarea unor amestecuri de polimeri cu caracter hidrofil accentuat.

Dincolo de avantajul flexibilității lor, ambele clase de materiale alese pentru realizarea de lentile intraoculare foldabile (polimerii siliconici și hidrogelurile) pun o serie de probleme din punct de vedere optic și mecanic. Tocmai datorită flexibilității lor, odată implantate, cazurile de descentrare erau mult mai frecvente, din cauza forțelor de contracție capsulară [11].

Primele tipuri de lentile intraoculare foldabile obținute din aceste biomateriale ridicau probleme și în ceea ce privește manipularea lor. Elasticitatea accentuată a polimerilor siliconici conducea la o depliere foarte rapidă, greu de controlat, iar indicele de refracție mic făcea necesară producerea unor lentile mai groase. Hidrogelurile trebuiau manevrate cu grijă din cauza fragilității lor și a tendinței de a se lipi de instrumentar, mănuși chirurgicale etc.

Pentru a deveni alternative viabile la PMMA, a fost necesară reconsiderarea anumitor aspecte legate de ingineria biomaterialului în sine. Astfel, s-au succedat pe piața medicală mai multe generații de lentile foldabile, diferența constând în modificări aduse atât biomaterialului, cât și designului. Designul tradițional, în care partea optică era încadrată de inele de fixare, a fost înlocuit cu un design în care partea haptică încadra partea optică

Scanned with OKEN Scanner

(asemănător cu o farfurie), tocmai în ideea unei stabilități mai mari a implantului în sacul capsular.

Cele mai noi biomateriale folosite pentru realizarea lentilelor intraoculare au avantajul de a fi beneficiat de experiența anterioară în domeniu. Aceasta a dus la stabilirea criteriilor la care trebuie să răspundă un biomaterial conceput pentru lentile intraoculare foldabile, pe lângă cele pentru o lentilă intraoculară obișnuită:

- pentru a introduce ușor o lentilă intraoculară printr-o incizie mică, aceasta trebuie să fie nu numai foldabilă (flexibilă), ci și subțire. În acest sens, biomaterialul utilizat trebuie să aibă un indice de refracție mare.
- este foarte important ca proprietățile de flexibilitate ale lentilei să fie de așa natură încât să permită controlul eficient al acesteia în timpul inserției. Deplierea trebuie să aibă o viteză moderată, care să permită plasarea exactă a lentilei intraoperator.
- biomaterialul trebuie să fie suficient de rezistent pentru a face față plierii și manipulărilor necesare pentru implantare. În urma deplierii, biomaterialul trebuie să-și recapete proprietățile optice și să nu prezinte modificări ale proprietăților mecanice.

Întrucât PMMA se dovedise de neîntrecut din punct de vedere al calităților optice, producătorii de lentile intraoculare foldabile s-au orientat și spre aceeași clasă de polimeri sintetici, cea a polimerilor acrilici. De exemplu, firma Alcon Surgical și-a propus obținerea unui biomaterial pentru lentile intraoculare foldabile care să aibă aceleași calități optice și clinice, sau chiar mai bune decât ale PMMA.

Biomaterialul conceput în acest sens (ACRYSOF®) este un copolimer acrilat/metacrilat, a cărui formulă chimică este prezentată în fig. 3, alături de cea a PMMA.

Compoziția chimică a copolimerului îi asigură acestuia, pe lângă proprietățile caracteristice polimerilor acrilici (biocompatibilitate, stabilitate

Scanned with OKEN Scanner

fizică şi chimică), proprietăţi mecanice (foldabilitate şi rezistenţă) şi optice (indice de refracţie mare) adecvate lentilelor intraoculare foldabile.

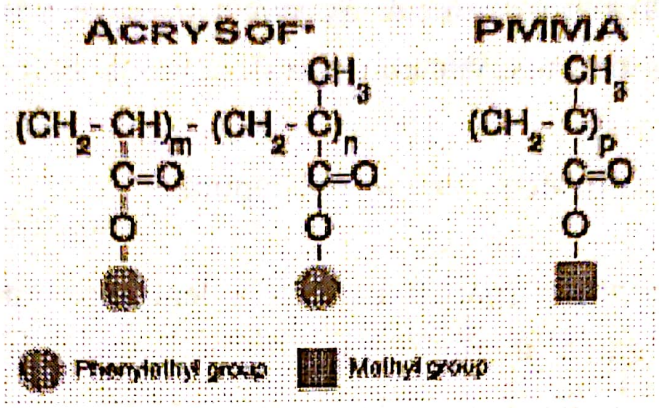


Fig. 3 Structura chimică a copolimerului acrilat/metacrilat în comparaţie cu cea a PMMA [18]

Biomaterialul este supus unui tratament de suprafaţă care reduce adezivitatea caracteristică materialelor "moi", în ideea apropierii de caracteristicile de suprafaţă ale PMMA. ACRYSOF® conţine şi un absorbant UV, legat covalent de catena copolimerului [18].

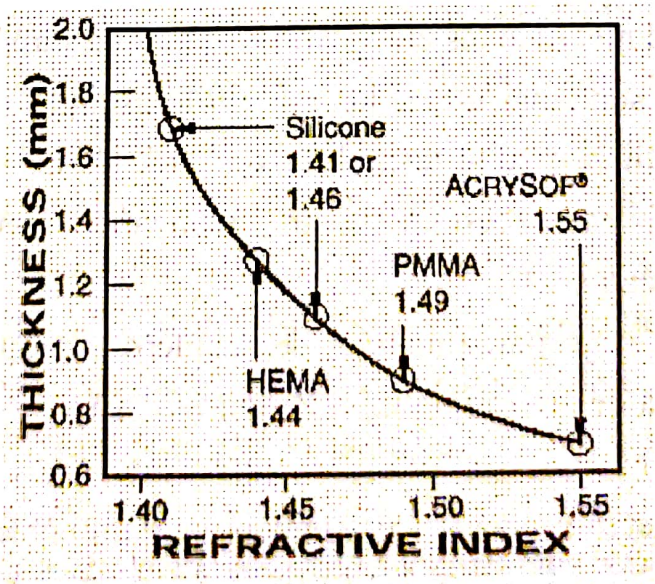


Fig. 4 Relaţia dintre grosimea părţii optice şi indicele de refracţie pentru lentile intraoculare de 21D, cu un diametru al părţii optice de 6 mm şi o grosime a marginii acesteia de 0,3 mm [18]

Scanned with OKEN Scanner

Biomaterialul astfel obținut are un indice mare de refracție, de 1,55 [18], ceea ce permite realizarea unor lentile intraoculare foldabile mai subțiri, după cum se poate remarca din fig. 4. Se poate observa creşterea accentuată a grosimii lentilelor din materiale cu index de refracție mai mic decât 1,47.

2.2. Biomateriale utilizate pentru partea haptică

Inelele de prindere (partea haptică a lentilelor intraoculare), au fost realizate dintr-o gamă foarte variată de materiale, de-a lungul timpului folosindu-se atât biomateriale metalice (platină, titan, oțel inoxidabil) cât şi polimerice (poliamide alifatice, polipropilenă, PMMA).

Poliamidele alifatice (Nylonurile) au fost primul clasă folosită de materiale, pentru proprietățile lor mecanice, rezistență şi facilitatea de manipulare. Un mare dezavantaj al acestor polimeri îl constituie însă degradarea lor în mediu biologic, ceea ce determina ruperea inelelor de prindere. Din acest motiv, începând cu anii `80, poliamidele au fost excluse de pe lista materialelor pentru implanturi oculare.

Materialele metalice testate (platină, titan, oțel inoxidabil) prezintă un alt inconvenient – sunt mai grele, iar marginile ascuțite şi tăioase ale inelelor induc complicații la nivelul țesutului uveal [8]. De aceea s-a renunțat relativ repede la utilizarea acestora pentru realizarea componentei haptice a lentilelor intraoculare.

În prezent, majoritatea inelelor de prindere a lentilelor intraoculare sunt realizate pe bază de polipropilenă (PP) sau PMMA.

Polipropilena este un polimer sintetic cu bună rezistență mecanică, relativ inert şi stabil, elastic, rezistent la contaminarea bacteriană şi relativ bine tolerat de către ochi. Sensibilitatea sa la degradare oxidativă poate fi diminuată prin adăugarea de agenți antioxidanți.

Utilizarea PMMA pentru realizarea inelelor de prindere a ridicat probleme legate de flexibilitatea lor scăzută, net inferioară celor din PP. În

Scanned with OKEN Scanner

ultimii ani însă, conceptul de fixare a lentilei intraoculare în interiorul capsulei biologice a schimbat criteriile de apreciere legate de importanța compresibilității sau elasticității biomaterialelor utilizate. Se consideră acum ca mai avantajoase inelele de prindere cu o compresibilitate mai scăzută, care își revin la forma inițială după implantare, în interiorul capsulei.

2.3. Metode de sterilizare

Sterilizarea reprezintă o etapă deosebit de importantă în procesul de obținere a lentilelor intraoculare, de modul ei de realizare depinzând performanțele produsului finit. O sterilizare necorespunzătoare poate declanşa infecții şi poate chiar compromite vederea cu ochiul în care a fost implantată lentila. Pe de altă parte, operația de sterilizare a lentilelor intraoculare este destul de complexă şi costisitoare.

Cele mai multe materiale pentru uz medical sunt sterilizate cu diferite metode care implică utilizarea căldurii. Acest lucru nu este posibil pentru cea mai mare parte dintre lentilele intraoculare existente la ora actuală, deoarece atât PMMA cât şi polipropilena sunt polimeri cu rezistență relativ scăzută la temperaturi înalte (doar lentilele pe bază de polimeri siliconici pot fi sterilizate prin autoclavare). Încălzirea lor până la temperaturi care să asigure o sterilizare eficientă determină modificări importante în structura lentilelor intraoculare, afectându-le proprietățile mecanice şi făcându-le improprii pentru utilizare. Nici sterilizarea cu ajutorul substanțelor cu acțiune antiseptică nu este potrivită în cazul implanturilor oculare, acestea fiind în general absorbite de către polimeri şi eliberate în timp în ochi, ceea ce provoacă inflamații severe.

Cea mai utilizată metodă de sterilizare a lentilelor intraoculare rămâne metoda bazată pe utilizarea de radiații gamma. Lentilele pe bază de PMMA pot accepta iradieri gamma de până la 2,5 Mrad [8], putând fi astfel sterilizate fără afectarea materialului. O depăşire a acestei valori limită poate provoca

Scanned with OKEN Scanner

inflamații severe. Pe de altă parte, în cazul în care lentilele intraoculare au partea haptică pe bază de polipropilenă, aceasta trebuie sterilizată separat, înainte de fixarea de partea optică a lentilei, deoarece PP nu poate fi sterilizată prin iradiere gamma. Inelele de prindere pot fi sterilizate cu soluții de hidroxid de sodiu, o atenție deosebită fiind acordată prevenirii riscurilor de contaminare oculară. Însă realizarea etapei de fixare a celor două părți, optice și haptice, după cea de sterilizare, poate la rândul ei să constituie sursă de contaminare a lentilelor intraoculare.

O altă posibilitate de sterilizarea atât a părții optice cât și a părților haptice ale lentilelor oculare o reprezintă sterilizarea cu etilenoxid. Conform acestei metode, lentila trebuie plasată într-o cameră de presiune și expusă vaporilor de etilenoxid. Acesta denaturează protoplasma microorganismelor, fără să atace și materialele sintetice. Totuși, există un risc crescut de absorbție a etilenoxidului de către polimeri, cu eliberare în timp, după implantarea lentilei, ceea ce ar produce reacții inflamatorii și alergii. De aceea, sterilizarea cu etilenoxid este mai puțin folosită decât cea prin iradiere gamma.

2.4. Avantaje și dezavantaje ale biomaterialelor utilizate

Este dificil de făcut o alegere între lentilele realizate din diferite biomateriale, mai întâi între o lentilă din PMMA și una foldabilă, iar între cele foldabile să alegi între diferiți polimeri siliconici, hidrogeluri și polimeri acrilici foldabili. În general, decizia se ia combinând aspectele clinice legate de pacient cu cele economice. În continuare sunt prezentate o serie de avantaje și dezavantaje ale lentilelor foldabile față de cele din PMMA, abordând acele aspecte care sunt într-o măsură mai mare clarificate.

Avantajele lentilelor foldabile

Primul aspect ce constituie un avantaj este *mărimea inciziei*, de aproximativ 2,5-3,5 mm pentru o lentilă foldabilă, față de 6 mm pentru lentilele clasice pe bază de PMMA. Avantajele unei incizii mai mici constau

Scanned with OKEN Scanner

în recuperarea postoperatorie rapidă, practic nefiind nevoie de suturi, şi în acelaşi timp reduce riscul apariţiei astigmatismului postoperator.

La suprafaţa lentilelor din hidrogeluri sau polimeri siliconici aderă mai puţine celule faţă de suprafaţa PMMA; aceste materiale nu afectează endoteliul cornean (prin pierdere de celule) în măsura în se întâmplă în cazul PMMA. Materialele moi, prin natura lor, sunt mai "blânde" cu ţesutul uveal.

Polimerii siliconici şi hidrogelurile sunt mai uşoare decât PMMA, iar riscul de compromitere al zonulelor prin subluxarea sau dislocarea consecutivă a lentilei este mai redus, de aceea trebuie luate în calcul ca alternativă pentru pacienţii cu zonule mai fragile (pacienţii cu miopie, pseudoexfoliere sau sindrom Marfan).

Toate materialele foldabile au caracteristici optice excelente ale suprafeţei, reducând reflexia.

Hidrogelurile şi polimerii siliconici pot fi sterilizaţi prin autoclavare; totuşi, multe din lentilele foldabile au partea haptică din materiale ce nu pot fi autoclavate [4].

Materialele foldabile nu aderă la ţesuturile vecine; prin urmare pot fi mult mai uşor explantate, dacă este nevoie.

Dezavantajele lentilelor foldabile

Descentrarea sau înclinarea lentilei sunt mult mai frecvente ca urmare a îndoirii ce are loc la joncţiunea dintre partea optică şi cea haptică atunci când forţele de contracţie capsulară depăşesc rezistenţa mecanică a lentilei. În acest fel se induce pacientului un astigmatism miopic.

Pe de altă parte, implantarea poate duce la deteriorarea lentilei, din cauza fragilităţii acestora – hidrogelurile în special sunt mai vulnerabile din acest punct de vedere.

O serie de probleme optice au fost ridicate de hidrogeluri; se pare că pe suprafaţa lor posterioară se pot separa picături de apă ce interferează cu funcţia optică a lentilei.

Scanned with OKEN Scanner

3. Biocompatibilitatea lentilelor intraoculare. Opacifierea capsulei posterioare.

Biocompatibilitatea biomaterialelor utilizate pentru lentile intraoculare este un indicator a cărui semnificație trebuie privită din mai multe puncte de vedere.

Un prim aspect este cel al *răspunsului imun* consecutiv implantării, mulți autori [3,15,20] folosind acest aspect ca pe un parametru pentru aprecierea biocompatibilității lentilelor intraoculare. Acesta este cu siguranță foarte important, având în vedere gravitatea complicațiilor ce pot apărea dacă nu se încadrează în anumiți parametri.

În condițiile unui glob ocular care nu prezintă alte patologii asociate cataractei, acest răspuns imun imediat nu influențează negativ reabilitarea vederii și poate fi ținut sub control medicamentos (tratament antiinflamator) [1,21]. Pe un teren a cărui integritate este deja afectată de o patologie asociată, răspunsul imun imediat poate avea o agresivitate mai mare și poate duce la complicații. Este de dorit deci ca implantul să reducă cât mai mult acest răspuns al organismului la un corp străin.

Întrucât răspunsul organismului se bazează pe interacțiunile cu moleculele de la suprafața implantului, care se "exprimă" asemeni unor "receptori" membranari, în general se urmărește influențarea în sensul dorit a interacțiunii dintre țesuturile oculare și implant, prin generarea unor caracteristici adecvate ale suprafeței acestuia.

Aspecte importante sunt legate de caracteristicile hidrofile sau hidrofobe ale materialului și de topografia suprafeței acestuia. Pentru evaluarea topografiei suprafețelor lentilelor intraoculare din PMMA se poate utiliza microscopia electronică de joasă tensiune [22].

O metodă utilă pentru a obține informații despre suprafața unui biomaterial, și în acest fel despre interacțiunile ce vor avea loc la acest nivel, o constituie măsurarea unghiului de contact în aer și în apă. Rezultatele

Scanned with OKEN Scanner

obținute diferențiază biomaterialele utilizate pe baza forțelor de suprafață, polare și dispersive [23].

Toate materialele folosite determină într-o anumită măsură un răspuns imun nespecific, care diferă prin caracteristicile histologice ale răspunsului celular. Studii clinice au arătat că la suprafața anterioară a lentilelor din polimeri siliconici se întâlnesc mult mai multe celule de dimensiuni mici în comparație cu lentilele din PMMA sau hidrogeluri acrilice, iar la suprafața celor din polimeri acrilici apar semnificativ mai multe celule gigant față de celelalte materiale [15].

Având în vedere că biocompatibilitatea unui implant se referă la interacțiunea pe termen lung dintre organism și structura sintetică, consecințele acestei interacțiuni nu trebuie să împiedice funcționarea implantului în scopul pentru care a fost realizat. Din punctul de vedere al biomaterialelor utilizate pentru lentile intraoculare, un aspect important este cel al proliferării celulare la suprafața lor, aspect ce a fost evidențiat odată cu complicația cea mai frecvent întâlnită post-implantare – opacifierea capsulei posterioare.

Studii histologice au arătat că aceasta este determinată de proliferarea unor celule epiteliale cristaliniene reziduale. Dacă o astfel de celulă rămâne intactă pe sacul capsular, ea se transformă în fibră cristaliniană iar celulele transformate se aglomerează pe capsula posterioară. Acestea nu mai prezintă așezarea ordonată caracteristică cristalinului normal, așa încât constituie ceea ce se numește *cataractă secundară,* prin opacifierea capsulei posterioare.

De ce celulele reziduale proliferează și se transformă fibroblastic? Întrucât acest fenomen apare după implantarea lentilei intraoculare, s-a pus problema dacă nu cumva materialul acesteia este cel care determină răspunsul proliferativ. De aceea unii autori consideră că *proliferarea celulară la suprafața unei lentile intraoculare este o măsură a biocompatibilității acesteia* [4,11,14].

Scanned with OKEN Scanner

Proliferarea dezordonată a celulelor epiteliale cristaliniene are loc şi în cazul cristalinului biologic, în condiţiile unei inflamaţii oculare. Se pare că mediatorii inflamaţiei determină acest răspuns, care constituie adesea preambulul formării cataractei. Se poate concluziona deci că un răspuns inflamator post-implantare constituie un factor ce poate declanşa răspunsul proliferativ al celulelor epiteliale reziduale. Astfel, cele două aspecte ale biocompatibilităţii – ambele implicând relaţia dintre material şi celulele organismului – sunt legate între ele. Nu se ştie încă care este corelaţia între cele două aspecte.

Pe de altă parte, opacifierea capsulei posterioare nu apare întotdeauna imediat, dimpotrivă proporţia apariţiei cataractei secundare crescând în timp. Astfel, după primul an de la implantare ea este de 11,8%, 20,7% după trei ani şi 28,4% la cinci ani după implantare. Acest lucru sugerează că este foarte importantă relaţia care se stabileşte la interfaţa dintre implant, sacul capsular (capsula posterioară şi marginile capsulei anterioare) şi componenta celulară reziduală. Strategiile de modificare a suprafeţei implantului pentru a nu induce sau pentru a împiedica proliferarea celulară nu au avut succesul scontat. S-a urmărit pe de altă parte o împiedicare mecanică a proliferării celulare la suprafaţa capsulei posterioare, printr-o aderare cât mai accentuată a lentilei la capsulă. Se pare că în acest sens aspectele legate de design au fost mai eficiente, un implant cu margini mai "ascuţite", care să realizeze o circumferinţă bine evidenţiată şi "prinsă" în capsula posterioară, împiedicând mult mai bine migrarea celulelor. S-au pus în evidenţă şi cazuri de proliferare pe capsula anterioară. În măsura în care celulele au nevoie de o membrană bazală pentru a se fixa iar în partea anterioară aceasta nu se găseşte în axul vizual, vederea nu va fi afectată decât în cazuri rare [20].

Studiile care prezintă incidenţa opacifierii capsulei posterioare nu au făcut diferenţieri nete în acest sens între PMMA şi biomaterialele utilizate pentru lentile intraoculare foldabile. Semnificativ este faptul că proporţia apariţiei opacifierii capsulei posterioare, prezentată de studii diferite este

Scanned with OKEN Scanner

foarte asemănătoare. De aici şi concluzia că bazele dezvoltării acestui fenomen sunt de natură imunologică – respectiv un anumit segment al populației are o "sensibilitate" mărită la implant, sau o reactivitate mai mare a proliferării celulare reziduale. Substratul molecular al acestui fenomen nu se cunoaşte încă. Au fost luate în considerare diverse variante de "măsuri" de ordin imunologic în încercarea de a preveni apariția cataractei secundare consecutiv implantării de lentile intraoculare [12].

Dincolo de proliferarea şi adeziunea celulară la suprafața lentilelor intraoculare, tot prin prisma biocompatibilității trebuie luată în considerare şi aderarea sau depunerea la suprafața lor a proteinelor şi a altor tipuri de molecule implicate în procesul inflamator. Aceste depuneri pot fi inofensive pentru rezultatele pe termen lung ale implantării dar pot de asemenea duce la complicații – fie din punctul de vedere al calității optice a suprafeței anterioare a implantului, fie pentru că pot conduce la aderarea marginii irisului la lentilă (sinechii) [4].

4. Modele de lentile intraoculare

Corpul unei lentile intraoculare este partea centrală a acesteia, care încorporează sau este constituită în întregime de partea optică [14]. Parametrii care îl individualizează, variind de la un model de lentilă intraoculară la altul, sunt:

- diametrul total;
- diametrul părții optice;
- factorul ce caracterizează forma componentei optice (optic shape factor).

Inelele de prindere (loops) reprezintă o extensie periferică a corpului, având rolul de poziționare a lentilei intraoculare în cadrul globului ocular. Ele fac parte din componenta haptică a lentilei sau pot reprezenta ele însele

Scanned with OKEN Scanner

această componentă. Parametrii care le individualizează de la un model la altul sunt:

- configurația;
- calibrul;
- angulația (angulation) – unghiul dintre haptic și optic.

Cele două părți ale lentilei intraoculare sunt definite atât prin parametrii enumerați mai sus, cât și prin biomaterialul din care sunt realizate. Acesta poate fi de aceeași natură sau de natură diferită, pentru partea optică și cea haptică. Partea haptică poate face corp comun cu cea optică, prin natura procesului de obținere – caz în care lentila este *monocomponentă* sau monobloc (one-piece) – sau poate fi prinsă de aceasta prin diverse procedee tehnologice – *lentilă multicomponentă* (three-piece).

Partea optică este cea care participă la formarea imaginii, realizând refracția și este partea centrală a lentilei intraoculare. Ea poate avea formă discoidală sau eliptică. Partea optică este considerată ca având dimensiuni mici atunci când diametrul ei este de sub 5,5 mm, în orice meridian. În acest caz există un risc mai crescut de descentrare.

Lentila intraoculară mai poate prezenta anumite elemente complementare de design, cum ar fi *găuri de poziționare* (rolul acestora este de a permite o cât mai bună fixare a lentilei prin interacțiunea cu țesutul fibros al sacului capsular) sau mici protuberanțe pe suprafața optică posterioară al căror rol este acela de spațiatori între aceasta și capsula posterioară. Indiferent de felul sau numărul acestor detalii de design, ele nu trebuie să interfereze cu funcția optică a lentilei – în acest sens, partea optică trebuie să aibă o suprafață optic eficientă (care să realizeze refracția) de cel puțin 4,25 mm [14].

Un alt parametru important pentru partea optică este distanța dintre cele două planuri normale la axa optică și tangente la suprafața lentilei necompresate [14]. Acest parametru este determinat de materialul din care

Scanned with OKEN Scanner

este realizată lentila, respectiv de indicele de refracție al acestuia. Astfel, pentru aceeași putere dioptrică, o lentilă dintr-un material cu un indice de refracție mai mare va fi mai subțire decât o lentilă dintr-un material cu un indice de refracție mai mic [18].

Partea haptică poate avea un design așa numit *tradițional* – cu inele de prindere – care pot avea forma literei J sau C (fig. 5). Acest design este caracteristic lentilelor din PMMA, dar poate fi folosit și pentru celelalte materiale. Pentru lentilele moi, foldabile, s-a conceput un design care să le permită o pliere mai ușoară – așa numitul design tip *"farfurie"*(fig. 6), în care partea optică este încadrată de cea haptică [4].

Ca urmare a folosirii din ce în ce mai frecvente a facoemulsifierii și a unei incizii mai reduse în dimensiuni, și designul lentilelor din PMMA a suferit modificări importante – și anume reducerea diametrului total și a diametrului părții optice cât și reducerea angulației dintre partea optică și cea haptică până la o formă aproape plană [11].

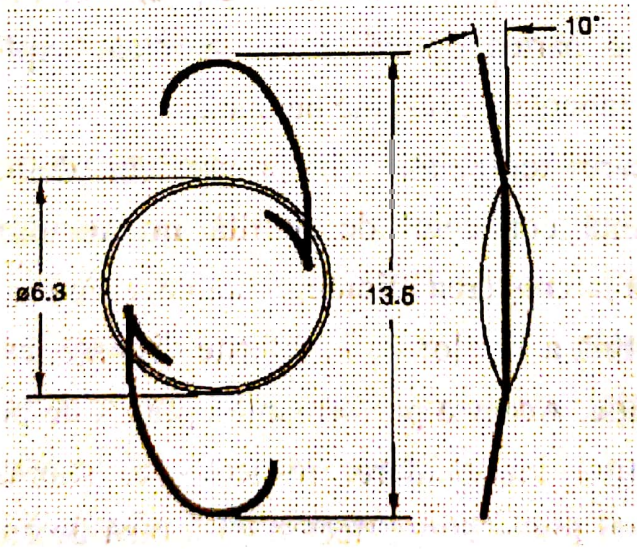


Fig. 5 Model de lentilă cu inelele de prindere sub forma literei C [7]

Scanned with OKEN Scanner

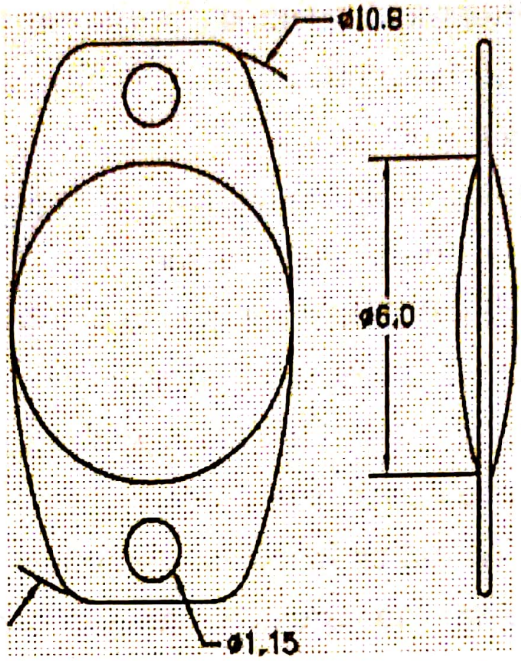


Fig. 6 Model de lentilă intraoculară foldabilă [7]

Atât elementele de design prezentate mai sus, cât şi combinaţiile posibile între materialele pentru partea optică şi cea haptică, explică diversitatea modelelor de lentile intraoculare prezente pe piaţă.

Un alt aspect care reprezintă un progres în domeniul lentilelor intraoculare îl reprezintă conceptul de **lentilă intraoculară multifocală** (fig.7). Acesta se referă la creşterea eficienţei optice a lentilei intraoculare, în sensul focalizării pe retină a razelor de la diferite distanţe, aspect ce poate fi numit pseudo-acomodaţie. Această performanţă optică este posibilă printr-un design special al lentilei intraoculare, respectiv al suprafeţei sale – în principiu aceasta are mai multe zone, fiecare cu o rază de curbură diferită şi care astfel vor realiza refracţii diferite. În funcţie de principiul optic pe care se bazează, lentilele intraoculare multifocale se clasifică în *lentile de difracţie* (principiul Huygens-Fresnel) şi *lentile de refracţie* (principiul refracţiei) [24,25].

Scanned with OKEN Scanner

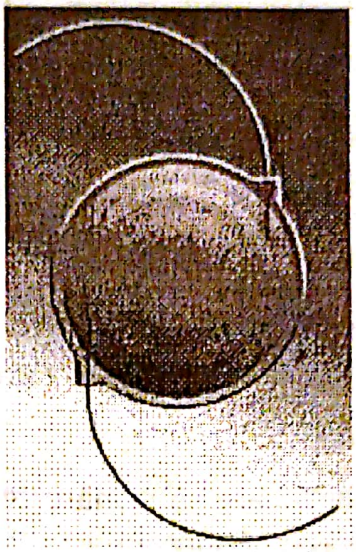


Fig. 7 Exemplu de lentilă intraoculară multifocală [7]

Prima lentilă multifocală intraoculară a fost implantată în 1986 [25]. Reabilitarea vederii este eficientă, dar nu optimă, întrucât pseudo-acomodația realizată nu permite performanțe optice deosebite în ceea ce privește claritatea imaginii, aprecierea contrastului sau a luminozității [24].

5. Calculul puterii dioptrice a lentilei intraoculare

Un aspect important legat de implantarea lentilelor intraoculare este alegerea puterii dioptrice a acestora. Având în vedere că o dată implantată, lentila intraoculară devine permanentă, se înțelege cât de vitală este alegerea unei puteri dioptrice adecvate fiecărui pacient.

Există mai multe formule care pot fi utilizate în acest scop. Ele sunt fie formule de regresie (empirice) – cea mai populară fiind formula Sanders-Retzlaff-Kraff (SRK) – fie formule optice teoretice (Haigis, Holladay, Hoffer) [10].

Într-o astfel de formulă există cinci variabile:

Scanned with OKEN Scanner

- puterea dioptrică a lentilei intraoculare, aleasă în general ca variabila dependentă;
- puterea optică a corneei (notată adesea cu K - keratometric diopters);
- lungimea axială a globului ocular (axa optică), măsurată prin ultrasonografie sau prin mijloace optice;
- poziția lentilei intraoculare în interiorul globului ocular, parametru numit Efective Lens Position (ELP), care apreciază profunzimea postoperatorie a camerei anterioare;
- puterea refractivă oculară care se urmăreşte a se obține postoperator (în general între –2D şi 0 D).

Singura variabilă care nu poate fi măsurată preoperator este ELP. Îmbunătățirile aduse formulelor de calcul a puterii dioptrice a lentilelor intraoculare se bazează în principal pe îmbunătățirea predictabilității acestui parametru [9,10].

Cele mai mari erori sunt însă introduse prin puterea optică a corneei, aprecierea corectă a acestui parametru fiind foarte importantă şi ridică probleme mai ales după chirurgia refractivă a corneei [10].

Pentru a permite alegerea celui mai potrivit implant, modelele de lentile intraoculare prezintă puteri dioptrice din 5 în 5 D. Diferențele dintre diferitele designuri de lentile intraoculare (care modifică ELP) trebuie luate şi ele în considerare [14,26].

6. Perspective privind lentilele intraoculare

Faptul că implantarea lentilelor intraoculare a devenit o tehnică chirurgicală minim invazivă a făcut ca acest concept să fie avut în vedere şi în alte situații decât pentru cataracta senilă. Astfel, pentru a asigura o dezvoltare vizuală bună în cazurile de cataractă pediatrică, implantarea lentilelor intraoculare devine o variantă avută din ce în ce mai des în vedere

Scanned with OKEN Scanner

[27]. Este necesar un design adecvat şi se pune de asemenea problema modificării cu vârsta a dimensiunilor globului ocular.

Viciile de refracţie (miopia şi hipermetropia) pot fi corectate astăzi prin modificarea *in situ* a puterii dioptrice a cristalinului. O lentilă adecvat calculată ca putere dioptrică poate fi implantată în imediata apropiere a lentilei cristaliniene biologice, rezultând o lentilă compusă, ce imprimă ochiului caracteristicile de emetropie dorite.

Implantarea este definitivă în măsura în care complicaţiile sunt minime; la fel este şi corectarea vederii – avantajos pentru pacient, care poate renunţa definitiv la ochelari sau lentile de contact. Acest tip de lentilă intraoculară poartă denumirea de *phakic intraocular lens*. Există mai multe variante de astfel de lentile intraoculare, după locul de implantare [28]:

- lentile de cameră posterioară (Staar Colamer [29]) – se poziţionează în spatele irisului, pe suprafaţa cristalinului natural;
- lentile de cameră anterioară – cu suport în unghiul irido-corneean (lentile Baikoff) sau cu suport pe iris (Worst iris-claw/Artisan) – se poziţionează în faţa irisului, relativ aproape de cornee.

Dincolo de posibilele utilizări alternative ale lentilelor intraoculare monofocale, se pune problema reabilitării acomodaţiei, respectiv a reabilitării vederii multifocale. Drumul spre acest deziderat a fost deschis de lentilele intraoculare multifocale (MIOL).

Un concept care reprezintă "visul" oricărui oftalmolog [30] este cel al lentilelor intraoculare injectabile (injectable IOL), vis ce ar putea fi realizat printr-o tehnică chirurgicală imaginată de Kelman, cel care a pus la punct şi tehnica facoemulsifierii [31]. Acesta a apreciat că tehnica sa de îndepărtare a cataractei, prin emulsifiere ultrasonică ar putea fi îmbunătăţită în sensul următor: lichefierea conţinutului intracapsular cristalinian ar putea fi realizată cu ajutorul unui mini-magnet controlat de trei câmpuri magnetice exterioare. Prin controlul computerizat al mişcărilor acestuia s-ar putea realiza lichefierea conţinutului proteic fără a fi afectată integritatea capsulei.

Scanned with OKEN Scanner

Conținutul proteic odată extras prin absorbție, prin același orificiu s-ar putea introduce în interiorul capsulei un material polimeric cu indice de refracție adecvat, până când chirurgul poate vedea clar vasele retiniene, ceea ce ar indica realizarea emetropiei. "Sigilarea" capsulei cu un dop din polimer siliconic ar asigura un "nou" cristalin, transparent și în același timp capabil să realizeze acomodația prin mecanisme naturale. Dificultatea punerii la punct a unei tehnici chirurgicale de o asemenea precizie a amânat *sine die* cercetările în această direcție.

Realizarea acomodației prin mijloace "naturale" a fost luată în considerare și în ideea utilizării contracției mușchiului ciliar [32].

Deocamdată acest concept este la stadiul de proiect și nu s-au folosit clinic astfel de lentile. Se dorește realizarea unui design care să permită deplasarea lentilei intraoculare în axul vizual, modificând astfel puterea dioptrică a globului ocular. Aprecierea corectă a comenzilor mușchiului ciliar este dificil de realizat având în vedere că funcția sa biologică este de a impune o stare de tensiuni în zonule, iar lipsa funcției duce la atrofia structurii, ceea ce diminuează forța utilă pe care ar putea să o preia o astfel de lentilă intraoculară.

Un alt aspect care este avut în vedere pentru a fi îmbunătățit este împiedicarea apariției opaciferii capsulei posterioare. Pe lângă strategiile amintite anterior (imunologice, de design, modificarea suprafeței) există și ideea lentilei "compozite" [33], care ar avea o componentă anterioară cu funcție optică, și una posterioară, cu proprietăți puternic adezive, astfel încât lentila să fie "lipită" de capsula posterioară, împiedicând astfel dezvoltarea cataractei secundare.

Folosirea pe scară largă a lentilelor intraoculare va duce cu siguranță la determinarea din ce în ce mai exactă a factorilor ce intervin în modularea performanțelor clinice a diverselor biomateriale și modele de design. Acest aspect "impune" ca fiind cât se poate de realistă perspectiva realizării de lentile intraoculare din ce în ce mai apropiate de comportarea clinică ideală.

Scanned with OKEN Scanner

Bibliografie

1. I. E. Toader, *Aparate optice*, Editura Ştiinţifică, Bucureşti, 1995;
2. C.A. Guyton: *Fiziologie*, Editura Medicală Amaltea, Bucureşti, 1997, 332;
3. P. Bruin, E.A. Meeuwsen, M.V. van Andel, J.G. Worst, A.J. Pennings: *Autoclavable highly cross-linked polyurethane networks in ophthalmology. Biomaterials*, 14(14), 1089-1097 (1993);
4. A.W. Lloyd, R.G.A. Faragher, S.P. Denyer, *Ocular biomaterials and implants, Biomaterials,* 22(8), 769-785 (2001);
5. C. Lospa, *Implantul de cristalin*, Lucrare de diplomă, Facultatea de Bioinginerie Medicală, UMF Iaşi, 2001;
6. D. Chiseliţă, D. Brănişteanu, C. Bogdănici, G. Macovei, V. Rusu, P.P. Vancea: *Oftalmologie generală*, Editura Dosoftei, Iaşi, 1997;
7. *** Multifocal vs. Monofocal: the ARRAY Difference, http://www.arraylens.com;
8. A. Kight, M. Skladany, *Intraocular lenses*, Worcester Polytechnic Institute, Department of Biomedical Engineering, 2001 http://www.geocities.com/ackight79/;
9. J.T. Holladay: *Standardizing constants for ultrasonic biometry, keratometry, and intraocular lens power calculations, Journal of Cataract Refractive Surgery*, 23(9), 1356-1370 (1997);
10. B. Seitz, A. Langenbucher: *Intraocular lens calculations status after corneal refractive surgery, Current Opinion in Ophthalmology,* 11(1), 35-46 (2000);
11. C. Harstall, W. Schneider: *Intraocular lenses for uncomplicated senile cataract*, Alberta Heritage Foundation for Medical Research, 2000, http://www.ahfmr.ab.ca/;
12. B. Allan: *Intraocular lens implants, British Medical Journal*, 320(7227), 73-74 (2000);
13. J.R. Shepherd: "*Small Incisions and Foldable Intraocular Lenses*" în *"Cataract Surgery"*, J.M. Dodick, E.D. Donnenfeld (eds.), International Ophthalmology Clinics; Little, Brown and Company, Boston, 2, 103-112 (1994);
14. *** *Intraocular Lens Guidance Document*, U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Division of Ophthalmic Devices, http://www.fda.gov/;
15. E.J. Hollick, D.J. Spalton, P.G. Ursell, M.V. Pande, *Biocompatibility of poly(methyl methacrylate), silicone, and AcrySof intraocular lenses: randomized comparison of the cellular reaction on the anterior lens surface, Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 24(3), 361-366 (1998);
16. S.L. Hsu, Poly(methyl methacrylate) în *Polymer Data Handbook*, J.E. Mark (ed.), Oxford University Press, New York, 655-657 (1999);

Scanned with OKEN Scanner

17. C.D. Volpe, L. Fambri, C. Migliaresi, capitolul "*Comparative Evaluation of PMMA Intraocular Lenses*", în *Frontiers in Biomedical Polymer Applications*, R.M. Ottembrite (ed.), Technomic, Basel 1998, 239-250
18. *** Acrysof Monograph, http://www.alconlabs.com/;
19. A. Kuo, Poly(dimethylsiloxane) în *Polymer Data Handbook*, J.E. Mark (ed.), Oxford University Press, New York, 411-435 (1999);
20. E. Bertelmann, C. Kojetinsky, *Posterior capsule opacification and anterior capsule opacification, Current Opinion in Ophthalmology*, 12(1), 35-40 (2001);
21. A.Z. McColgin, J.S. Heier, *Control of intraocular inflammation associated with cataract surgery, Current Opinion in Ophthalmology*, 11(1), 3-6 (2000);
22. H. Hayashi, K. Oshima: *Low-vacuum, low-voltage scanning electron microscopy of poly(methyl methacrylate) intraocular lenses, Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 24(3), 385-389 (1998);
23. C.M. Cunanan, M. Ghazizadeh, S.Y. Buchen, P.M. Knight, *Contact-angle analysis of intraocular lenses, Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 24(3), 341-351 (1998);
24. E. Haaskjold, E.D. Allen, R.L. Burton, S.K. Webber, K.U. Sandvig, H. Jyrkkio, E. Leite, A. Liekfeld, B. Philipson, A. Nystrom, J. Wollensak, *Contrast sensitivity after implantation of diffractive bifocal and monofocal intraocular lenses, Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 24(5), 653-658 (1998);
25. R.F. Steinert, *Visual outcomes with multifocal intraocular lenses, Current Opinion in Ophthalmology*, 11(1), 12-21 (2000);
26. J.T. Holladay, K.J. Maverick, *Relationship of the actual thick intraocular lens optic to the thin lens equivalent, American Journal of Ophthalmology*, 126(3), 339-346 (1998);
27. E. Dahan, *Intraocular lens implantation in children, Current Opinion in Ophthalmology*, 11(1), 51-55 (2000);
28. O. Cernica, *Tratamentul chirurgical al miopiei, Jurnalul medical*, 1, 5 (2001);
29. E. Rosen, C. Gore, *Staar Collamer posterior chamber phakic intraocular lens to correct myopia and hyperopia, Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 24(5), 596-606 (1998);
30. J. Charlton, *Editorial Overview. Cataract surgery and lens implantation, Current Opinion in Ophthalmology*, 11(1), 1-2 (2000);
31. C.D. Kelman, *"The History and Development of Phacoemulsification"* în "*Cataract Surgery*", J.M. Dodick, E.D. Donnenfeld (eds.), International Ophthalmology Clinics; Little, Brown and Company, Boston, 2 (1994);
32. *** *Accommodating Intraocular Lens*, Patent US6176878;
33. *** *Biocomposite Intraocular Lens and method for its preparation*, Patent EP 1079870.

Scanned with OKEN Scanner

III

Clipurile anevrismale

Ion POEATĂ, Claudia ALBU, Marcel IVANOV

CUPRINS

1. Introducere 71
1.1. Anevrismele intracraniene. Definiţie, localizare. 72
1.2. Istoric 75
1.3. Epidemiologia AIC 75
1.4. Etiologia AIC 75
1.5. Fiziopatologia complicaţiilor AIC 76

2. Opţiuni de tratament 76
2.1. Tehnici iniţiale de tratament chirurgical 77
2.2. Tehnici actuale de tratament 78

3. Hemostaza în neurochirurgie 78

4. Clipurile anevrismale 80
4.1. Evoluţia formei clipurilor 81
4.2. Morfologia clipului autostatic 82
4.3. Tipuri de clipuri autostatice 87
4.4. Clipurile anevrismale. Avantaje şi dezavantaje. 91
4.5. Complicaţii, dificultăţi şi posibilităţi
de perfecţionare a utilizării clipurilor anevrismale 94
4.5.1. Complicaţii date de tehnica chirurgicală 94

Scanned with OKEN Scanner

4.5.2. Complicații date de design-ul clipului 94
4.5.3. Coroziunea la suprafața clipului 98
4.5.4. Complicații date de alunecarea clipului 99
4.5.5. Reacția tisulară cerebrală 101
4.5.6. Complicații date de incompatibilitatea neuroimagistică 102

5. Caracteristici de bază ale unui clip anevrismal 104
5.1. Materiale utilizate în producerea clipurilor anevrismale 105
5.2. Clipuri moderne. Caracteristici 108
5.3. Soluții moderne pentru îmbunătățirea clipului anevrismal 109

6. Experiența personală 111

Bibliografie 120

Scanned with OKEN Scanner

Clipurile anevrismale

Ion POEATĂ, Claudia ALBU, Marcel IVANOV

1.Intoducere

Bolile cerebrovasculare ocupă un loc important în patologia generală, fiind a treia cauză de deces după bolile cardiace şi neoplazice şi prima cauză de handicap fizic şi/sau psihic. În cadrul acestora, deosebit de grave sunt malformaţiile vasculare, datorită complicaţiilor lor hemoragice.

Cea mai frecventă malformaţie vasculară cerebrală, *anevrismul intracranian (AIC)* devine simptomatică prin hemoragie subarahnoidiană (HSA). HSA anevrismală reprezintă 80-85 % din totalul hemoragiilor subarahnoidiene, fiind asociată cu o morbiditate şi o mortalitate ridicată. Din această cauză managementul HSA şi tratamentul AIC reprezintă o preocupare de bază a neurochirurgiei vasculare.

Tratamentul AIC constă în prezent în clipare microchirurgicală sau embolizare cu spirale metalice prin cateterism vascular. În prezent în ţara noastră cliparea constituie metoda de elecţie în excluderea unui anevrism din circulaţie. Studii recente efectuate în servicii care dispun de tehnologie şi experienţă atât pentru cliparea microchirurgicală, cât şi pentru embolizare endovasculară încearcă să stabilească criteriile priorităţii indicaţiei pentru una din cele două metode în raport cu tipul de anevrism şi situaţia clinică.

În mod global, rata complicaţiilor grave este asemănătoare pentru cele două metode. Studiile pe termen lung lipsesc în cazul emboliză-rilor, mai recent introduse.

Cele două tipuri de implanturi folosite la ora actuală pentru excluderea din circulaţie a unui anevrism intracranian sunt reprezentate de clipul anevrismal şi spirala pentru embolizare. Recent este citată şi utilizarea stentului de obicei în combinaţie cu spiralele.

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul de faţă se doreşte a fi o sinteză a evoluţiei clipului anevrismal sub diverse aspecte: design, materiale utilizate, dificultăţi şi complicaţii, precum şi sub aspectul soluţiilor moderne pentru îmbunătăţirea acestuia. Caracteristicile de bază pe care trebuie să le îndeplinească un clip ca biomaterial implantabil sunt: biocompatibilitatea, netoxicitatea, netrombogenitatea şi compatibilitatea imagistică. Materialele folosite la realizarea clipului vascular sunt: oţelul inoxidabil, aliajele de cobalt, aliajele din titan, titanul pur etc.

Conceperea unui clip implică de asemenea design-ul şi alegerea dimensiunilor acestuia, care trebuie să fie cât mai adaptate condiţiilor din timpul operaţiei chirurgicale ce presupun: o vizualizare cât mai bună a câmpului operator, o manipulare uşoară şi o adaptabilitate la diferitele forme ale anevrismelor.

În finalul capitolului se prezintă experienţa Clinicii a-I-a de Neurochirurgie din Iaşi, în ceea ce priveşte tratamentul anevrismelor intracraniene. Sunt analizate în 79 de cazuri consecutive operate microchirurgical într-o perioadă de 6 ani (1994 - 1999) de către primul autor.

1.1. Anevrismele intracraniene. Definiţie, localizare.

Anevrismele sunt definite ca fiind dilataţii ectatice ale peretelui arterial deteriorat, care conţin sânge lichid sau coagulat şi care comunică cu lumenul vasului purtător (figura 1).

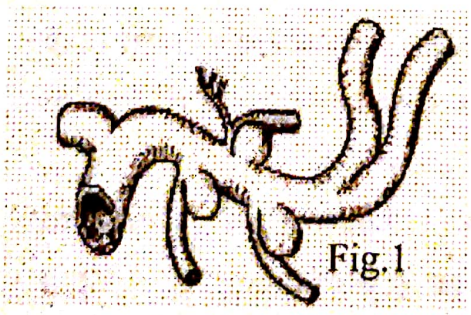
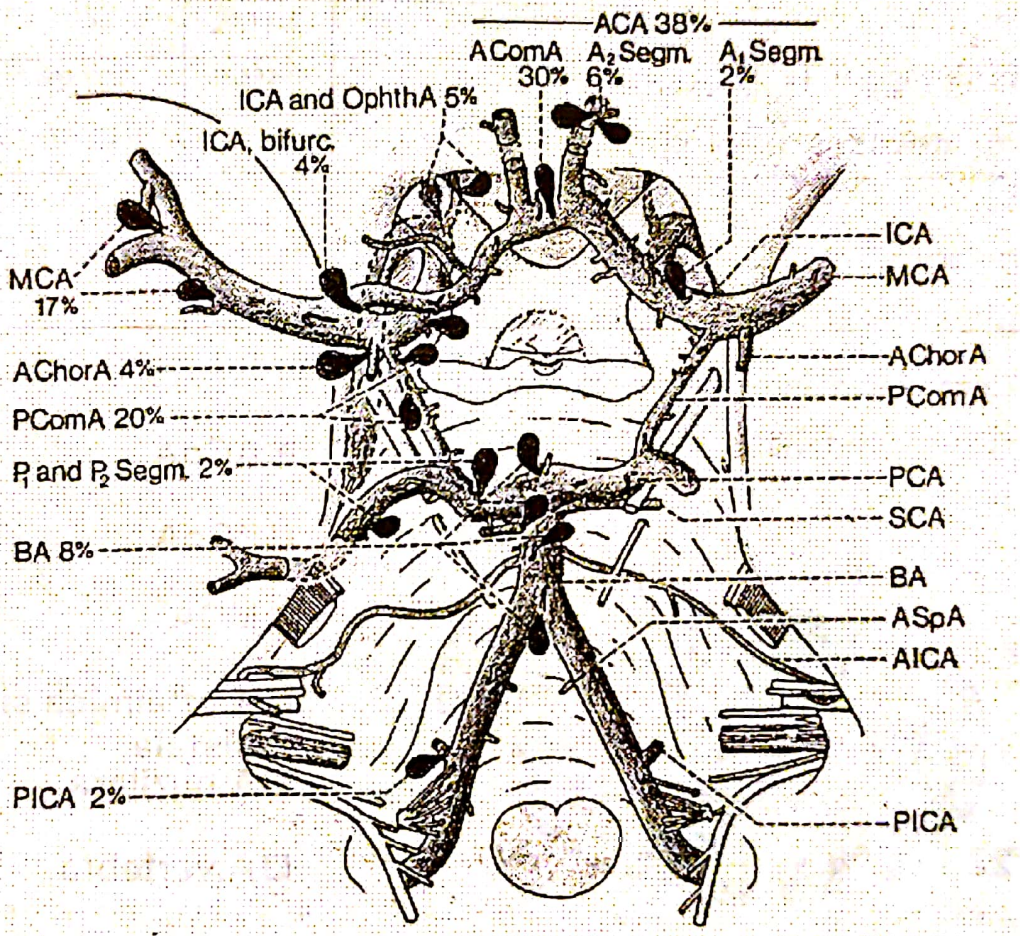


Fig. 1

Aceste malformaţii apar predomi-nant la nivelul arterelor de la baza creierului, în traiectul lor prin cisternele ocupate de lichidul cefalorahidian (spaţiul subarahno-idian). Locul de elecţie îl constitue bifurcaţiiler şi schimbările de direcţie ale vasului purtător.

Scanned with OKEN Scanner

Circulația arterială cerebrală este asigurată de cele două artere carotide interne și cele două artere vertebrale care se unesc în trunchiul vertebro-bazilar. Ramificațiile intracraniene ale acestor artere sunt de tip terminal, ceea ce conferă o gravitate crescută ocluziilor vasculare cerebrale.



În figura 2 este redată circulația arterială intracraniană de la baza creierului (poligonul Willis cu principalele aferențe: artera carotidă dreaptă și stângă, trunchiul vertebrobazilar format prin unirea arterelor vertebrale; și eferențe: arterele silviene, pericaloase, cerebrale posterioare) cu localizările predilecte ale anevrismelor intracraniene (18).

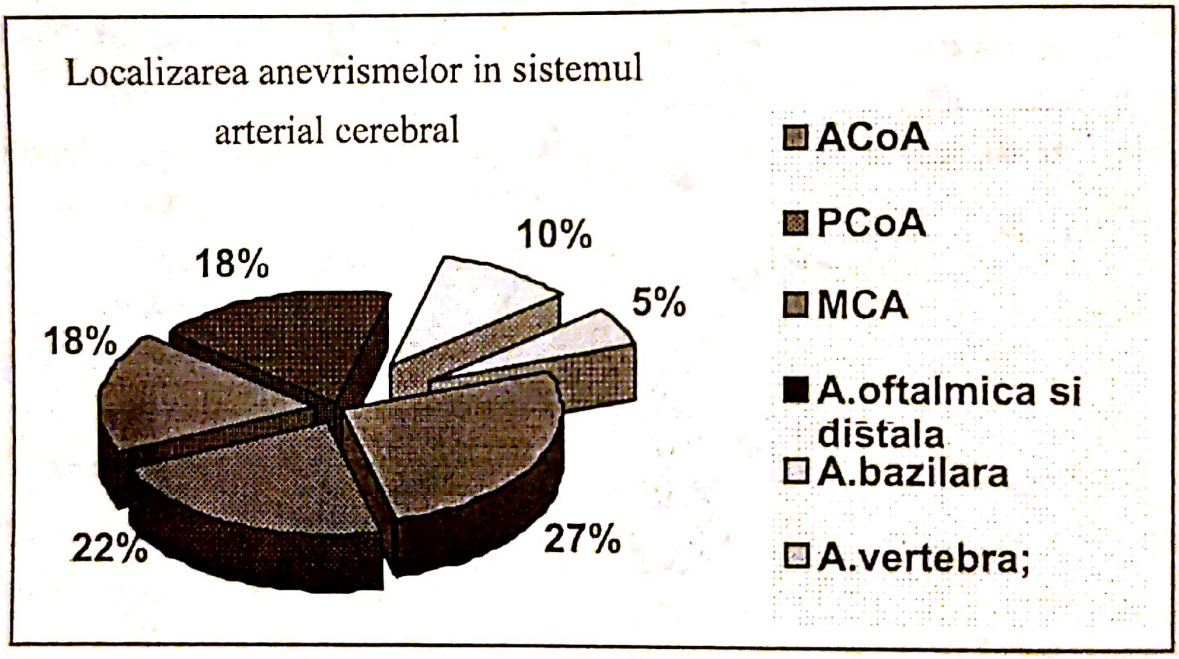
Scanned with OKEN Scanner

Localizarea şi procentajul AIC saculare este de asemenea reprezentată în tabelul 1 şi figura 3.

Tabelul 1

Circulaţia anterioară	artera comunicantă anterioară	30%	85%
	artera cerebrală medie	20%	
	artera comunicantă posterioară	25%	
	vase distale	5-10%	
Circulaţia posterioară	artera vertebrala	5%	15%
	artera bazilară	10%	

Fig.3



Majoritatea AIC sunt saculare, rotunde sau ovalare, ataşate printr-un colet sesil sau pediculat de vasul de origine. Fundul anevrismului reprezintă de obicei zona de minimă rezistenţă a sacului anevrismal, sediul cel mai frecvent al rupturilor anevrismale. AIC saculare sunt congenitale şi sunt de obicei localizate pe arterele cerebrale mari acolo unde stresul hemodinamic în vase este mare (bifurcaţii, curburi) (39, 1).

Scanned with OKEN Scanner

1.2. Istoric

Producerea HSA şi existenţa anevrismului intracranian sunt cunoscute încă din antichitate. Sindromul clinic al HSA datorată anevrismului cerebral a fost descris în 1923 de Symond. Introducerea angiografiei carotidiene în explorarea cerebrală de către Moniz în 1927 a contribuit major la diagnosticul şi tratamentul AIC. În 1931 Dott observă pe o angiografie un AIC situat la bifurcaţia carotidei şi îl operează prin învelirea sacului anevrismal în muşchi (wrapping) cu scopul întăririi peretelui anevrismal şi prevenirii rupturii. Dandy este primul care realizează obliterarea unui AIC cu ajutorul clipului în 1938 (5, 10)

Yaşargil este cel care subliniază beneficiile operaţiei microchirurgicale şi cel care îmbunătăţeşte clipurile. Paralel cu acest progres apare tomografia computerizată (CT-ul: 1973), care va permite diagnosticul neinvaziv al hemoragiei prin ruptură anevrismală, a sediului hemoragiei cât şi a unor complicaţii ca hidrocefalia, infarctul cerebral secundar vasospasmului (45).

1.3. Epidemiologia AIC

Incidenţa este destul dificil de estimat, studiile recente arată că prevalenţa AIC este de 5%. AIC se pot manifesta la orice vârstă (2% - în copilărie), însă frecvenţa maximă este în decadele 4-6 de viaţă.

Incidenţa rupturii anevrismului este de 1% în populaţie. Raportul AIC rupte la nerupte este de la 5:3 până la 5:6, AIC nerupte sunt de două ori mai frecvente la femei decât la bărbaţi(18).

1.4. Etiologia AIC

Mecanismul apariţiei şi dezvoltării anevrismului intracranian este controversat. Concepţia cea mai răspândită este că AIC se dezvoltă pe defecte de structură congenitale ale peretelui arterial. Rolul defectelor de structură câştigate ale peretelui arterial este de asemenea semnalat în

Scanned with OKEN Scanner

etiologia anevrismelor intracraniene (2).

Se poate spune că etiologia AIC poate fi:

- congenitală izolată : majoritatea cazurilor;
- congenitală asociată cu alte condiții (rinichi polichistic, displazie fibromusculară, MAV, defect de colagen tip III, sindromul Osler-Weber-Rendu, endocardite bacteriene);
- aterosclerotică;
- embolii;
- infecțioasă (anevrisme micotice);
- traumatică;
- un alt factor implicat direct sau indirect în formarea sau ruptura anevrismelor saculare îl constitue hipertensiunea arterială.

1.5. Fiziopatologia complicațiilor AIC

Complicațiile date de anevrismele intracraniene sunt:

- Sângerarea (hemoragia prin ruptura anevrismală), în majoritatea cazurilor în spațiul subarahnoidian: hemoragie subarahnoidiană asociată sau nu cu:
- hematomul intracerebral 20-40%
- hemoragia intraventriculară 13-28%
- hematomul subdural 2-5%
- Infarctul cerebral
- Compresiunea structurilor nervoase învecinate (anevrisme pseudotumorale) (34).

2. Opțiuni de tratament

Alegerea tratamentului optim al AIC trebuie să țină cont de: starea pacientului, anatomia AIC, disponibilitățile neurochirurgicale şi riscurile evoluției naturale (ruptură, deces la prima ruptură sau cu ocazia unei resângerări).

Scanned with OKEN Scanner

Tratamentul medical. Nu este adresat în mod direct AIC, ci vizează prevenirea şi tratamentul complicaţiilor rupturilor anevrismale.

Tratamentul chirurgical. Are ca scop scoaterea integrală a AIC din circulaţie cu păstrarea vasului purtător şi a colateralelor integre din punct de vedere al debitului sangvin.

2.1.Tehnici iniţiale de tratament chirurgical

Tehnici chirurgicale care se adresează vasului purtător

Abordul chirurgical iniţial la un anevrism intracranian se baza pe principiul Hunterian, de **ligatura proximală** a vasului purtător, inducând astfel tombozarea anevrismului.

În 1885, Victor Horsley a fost primul care a aplicat această metodă.

Trapping-ul constă în cliparea sau ligatura vasului purtător de anevrism înainte şi după localizarea anevrismului (în amonte şi în aval).

Infăşurarea şi acoperirea AIC (wrapping)

1931-Dott dezvoltă o tehnică de învelire a sacului anevrismal în muşchi". El propune utilizarea fragmentelor de muşchi în scopul formării unui perete fibros de siguranţă în jurul anevrismului. Randamentul acestei tehnici este destul de redus deoarece protecţia pe care o oferă faţă de ruptura recurentă a AIC sau lărgirea sacului anevrismal este relativă. După 8-10 săptămâni de la aplicare gradul de fibroză devine insuficient pentru o protecţie totală (9, 10).

1958 – Gillingham descrie o tehnică de învelire a AIC într-un tifon (ţesătură din bumbac - "muslin gauze"). Rezultatele clinice erau bune însă nu se asigura o protecţie completă împotriva hemoragiilor recurente sau expansiunii AIC (9).

1959 – Dutton şi Selverstone folosesc variate tipuri de materiale plastice aderente. Cel mai concludent este un material format dintr-un strat de

Scanned with OKEN Scanner

copolimer clorură de poliviniliden-polivinil şi un strat de răşină epoxidică (11, 12, 40).

Ligatura coletului anevrismal cu fir de mătase a fost abandonată relativ repede fiind o tehnică dificilă şi riscantă.

2.2. Tehnici actuale de tratament

Cliparea anevrismelor în regiunea coletului anevrismal, "tehnica de aur" devine metoda de elecţie odată cu introducerea pe scară largă a micro-neurochirurgiei în anii '70.

Abordarea intraluminală a AIC realizată prin introducerea de balonaşe, spirale metalice sau alte tehnici embolizante, sub control radiologic este o tehnică endovasculară ce se răspândeşte pe scară largă în ultimul deceniu ca o alternativă a clipării în anumite forme de AIC. Cel mai des folosite sunt spiralele metalice detaşabile Gugliemi ce se folosesc la ocluzionarea pungii anevrismale, în scopul obliterării sacului anevrismal.

3. Hemostaza în neurochirurgie

Un principiu fundamental al transfuziei este: "Sângele care nu este pierdut nu trebuie înlocuit ". Hemostaza reprezintă aspectul fundamental al conservării sângelui (evitarea transfuziei cât şi al prevenirii complicaţiilor de tipul hematomului postoperator).

Hemostaza, în cazul leziunilor vasculare mici, se poate produce spontan. În toate celelalte împrejurări ea se realizează activ şi comportă mijloace medicale (medicaţie hemostatică) sau chirurgicale. Un exemplu de hemostază spontană îl constituie oprirea hemoragiei după ruptură anevrismală în 80% din cazuri. Celelalte 20% din cazuri decedează înainte de ajunge la spital (moarte subită).

Un procent de 20% din pacienţii internaţi cu ruptură anevrismală decedează la scurt timp de la internare, hemoragia fiind prea gravă faţă de

Scanned with OKEN Scanner

resursele terapeutice actuale. Hemostaza spontană (naturală) se produce prin contracția peretelui vascular (spasm vascular) şi prin formarea unui trombus la nivelul rupturii vasculare.

Hemostaza chirurgicală poate fi provizorie sau definitivă.

Hemostaza chirurgicală provizorie reprezintă metoda de oprire temporară a unei hemoragii până la posibilitatea asigurării unei hemostaze definitive. Se poate realiza prin compresiune directă şi prin compresiune la distanță, exercitată în amonte de sursa sângerării în cazul hemoragiilor arteriale şi se aplică ori de câte ori este necesar să se asigure un câmp operator exsang sau când se execută o operație cu risc hemoragic mare.

Reprezintă o metodă de mare utilitate în cazul rupturii anevrismale intraoperatorii. În cazurile cu risc crescut pentru ruptură intraopereatorie, în jurul carotidei respective se aplică la gât un laț într-un prim timp operator. În caz de necesitate laţul se strânge în momentul rupturii anevrismale oprind fluxul de sânge în vas şi în anevrism ceea ce permite efectuarea manevrei de clipare, urmată de relaxarea laţului.

Hemostaza definitivă comportă mai multe procedee: ligatura, cauterizarea, forcipresura; tapotamentul compresiv.

Cauterizarea asigură hemostaza vaselor mici. Se realizează prin agenți fizici: termocauterizarea şi electrocauterizarea. Ambele produc coagularea substanțelor albuminoide şi astuparea vasului. În neurochirurgie ligatura vaselor nu constituie o metodă obişnuită de hemostază ca în chirurgia generală. Ligatura a fost înlocuită de electrocoagulare. Se preferă electro-coagularea bipolară (efectul termoelectric se produce între capetele unei pense, fiecare braț al pensei constituind un pol electric).

Forcipresura realizează strivirea pereților vasului cu ajutorul penselor hemostatice. Leziunea intimală astfel produsă permite formarea cheagului plachetar.

Tapotamentul compresiv cu meşă simplă sau îmbibată în apă oxigenată este unica soluție în sângerările în suprafață ale vaselor mici.

Scanned with OKEN Scanner

Hemostaza medicamentoasă se asigură prin medicație vasoconstric-toare și hemostatică. În aplicațiile locale se folosesc substanțe ca:adrenalină, bureți de trombină (Gelaspon), pulbere de fibrină, pelicule de fibrină, colagen impregnat cu fibrină (TahoComb), copolimer glucozidic (Surgicel) și apă oxigenată (34).

4. Clipurile anevrismale

Managementul chirurgical al anevrismelor cerebrale a fost complet revoluționat odată cu descoperirea clipurilor anevrismale. Aplicarea clipului are drept scop scoaterea integrală a anevrismului din circulație cu păstrarea vasului purtător, cât și a colateralelor integre din punct de vedere al debitului sangvin.

Începutul secolului XX a deschis porțile spre tehnicile neurochirugicale de astăzi. În 1911 Cushing introduce clipul din argint pentru realizarea hemostazei.

Tehnica clipării efective a fost introdusă în 1937 de către Walter Dandy, care a realizat obliterarea selectivă a unui anevrism situat la bifurcația carotidei interne, prin aplicarea unui clip din argint în formă de V.
Cushing și Dandy pot fi considerați inițiatorii acestei tehnici de clipare.

Deoarece posibilitățile inițiale de hemostază (clipurile simple din argint în diverse variante: Cushing, Mckenzie, Olivercrona) au fost îmbunătățite prin introducerea coagulării monopolare, apoi bipolare și a bureților hemostatici, folosirea acestor clipuri a fost redusă considerabil (15).

Toate aceste progrese, precum și faptul că excluderea din circulație a AIC saculare prin cliparea cu clipuri simple s-a însoțit de o rată crescută de mortalitate operatorie prin ruptură sau tromboză arterială, au făcut ca începând cu anii "60, macrochirurgia să fie înlocuită de microchirurgie, apărând simultan diverse tipuri de clipuri autostatice.

Scanned with OKEN Scanner

4.1. Evoluția formei clipurilor

Conform celor menționate mai sus, clipurile anevrismale pot fi grupate schematic în clipuri fixe şi clipuri autostatice.

Clipurile fixe

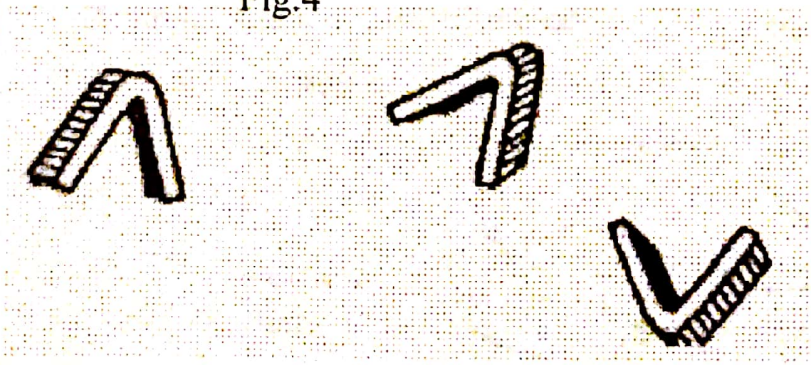
Clipurile fixe sunt nearticulate, alcătuite dintr-o singură piesă. Aceste clipuri sunt temporare şi sunt utilizate cu predilecție în hemostază. Materiale utilizate sunt: Argint, Tantal. În figurile 4 şi 5 sunt redate schematic clipuri de tipil: Cushing - Mac Kenzie (figura 4), Olivercrona (figura 5).

Clipul *Cushing* prezenta dezavantajul că odată aplicat, nu mai putea fi deschis şi repoziționat, în cazul unei poziționări suboptimale (17).

Olivercrona modifică clipul maleabil a lui Cushing prin adăugarea unor aripioare în partea superioară a brațelor clipului. Acestă inovație a permis repoziționarea clipului în caz de necesitate (17).

Aceste clipuri deşi pot să ocluzioneze coletul anevrismal, cauzează forfecarea şi ruperea anevrismului.

Fig.4



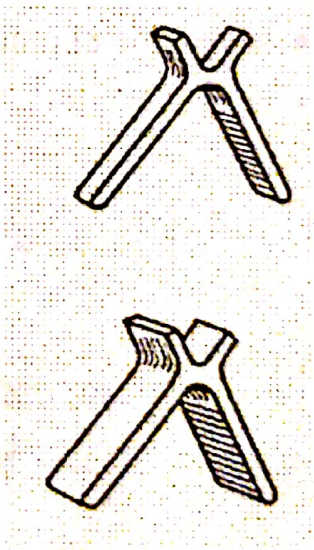


Fig.5

Clipurile autostatice şi aplicatorele folosite

Clipurile autostatice prezintă un mecanism de resort care asigură redeschiderea şi poziționarea lor fără alterarea peretelui vascular, au o presiune de închidere predeterminată. Ele se aplică cu uşurință folosind

aplicatoare special confecționate pentru fiecare tip de clip.

Aplicatorul de clipuri trebuie să permită poziționarea adecvată a clipului fără disecții extensive sau sacrificii de țesut cerebral. De asemenea nu trebuie să obtureze câmpul vizual operator, în schimb trebuie să asigure o poziție optimă de clipare, deoarece plasarea ideală a clipului se face cu brațele paralele cu axul vasului purtător.

Aplicatorul a evoluat de la un instrument uniarticulat simplu tip forceps (pensă) la un instrument versatil cu articulații ce permit modificarea angulațiilor. Materiale utilizate: Oțel inoxidabil, Vittallium, aliaje de Cobalt-Crom, Titan, aliaje de Titan. Tipuri: Heifetz, McFadden, Scoville, Sundt, Kerr, Yaşargil, Drake, Sugita etc.

4.2 Morfologia clipului autostatic

Clipul autostatic (figura 6) se compune din următoarele părți:

- brațele clipului cu fețele interne active şi vârful neted;
- articulația clipului;
- coada clipului (34).

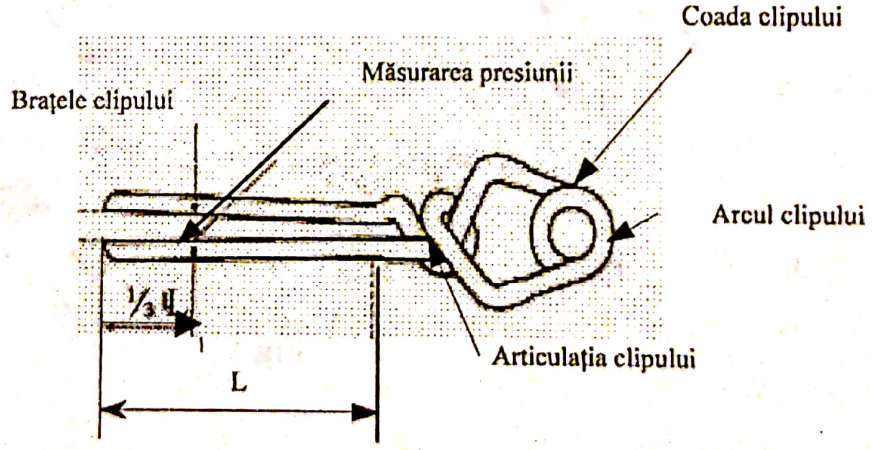


Fig.6

Sistemul de resort al clipului asigură proprietăți autostatice şi manevrabilitate. Forța de închidere se transmite brațelor, ceea ce duce la colabarea coletului anevrismal şi întreruperea aportului sanguin dinspre vasul purtător.

Scanned with OKEN Scanner

Această forță trebuie însă să prevină alunecarea clipului si totodată să nu lezeze peretele vascular. De-a lungul timpului în confecționarea clipurilor s-au încercat mai multe tipuri de mecanisme resort:

- resort multispiralat la nivelul cozii (brațele perpendiculare pe axa spiralei): clipul Scoville (figura 7).
- arc atașat în jurul axului de pivotare al brațelor: clipul Heiftz-Weck (figura 8).
- arc ataşat între brațele cozii: clipul Sundt (figura 9)

Fig.7

Fig.8

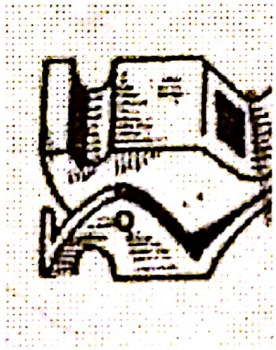
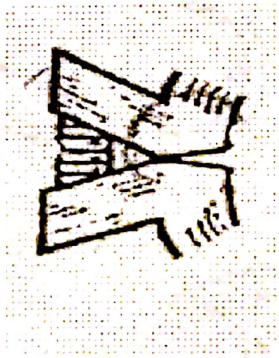


Fig.9



Actualmente arcul clipului este:

- un resort la nivelul cozii, acolo unde brațele se curbează pentru a se continua unul cu altul: curbură simplă (clipul Mayfield, clipul Yaşargil-1968- figura 10) sau curbură dublă (clipurile moderne figura 11);
- un resort dublu spiralat inversat, plasat între cele două brațe ale cozii în apropierea punctului de încrucişare al acestora (articulației brațelor). Deschiderea brațelor nu se face prin comprimare ci prin distensia brațelor distale (clipul Perneczky – figura 12).

Brațele active ale clipului realizează compresiunea coletului anevrismal. Pot avea formă lamelară sau formă de bară. Forma lamelară se întâlneşte la clipul Heiftz-Weck, Scoville, Mc Faden (figura 13). Pentru aplicare aceste clipuri necesită însă o disecție largă. Sunt necorespuzătoare pentru disecția

Scanned with OKEN Scanner

per se, însă suprafaţa activă mare le face utile în cliparea multiplă a pungilor anevrismale cu colet lat neclipabil.

Braţele în formă de bară (clipul Yaşargil, Sugita, Perneczky) pot fi utilizate şi în disecţii, vârful braţului fiind asemănător cu cel al cârligelor sau stiletelor de microdisecţie. Aplicarea acestor clipuri necesită o disecţie mai mică faţă de cele cu braţe lamelare.

Fig.10

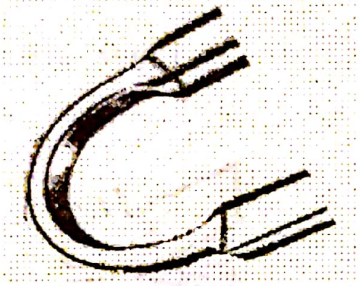


Fig.11

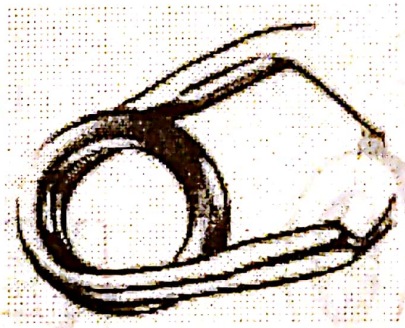
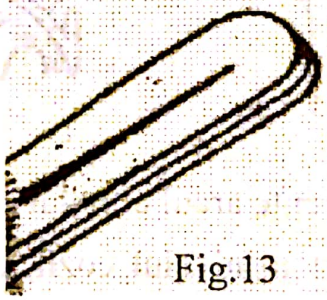


Fig.12

Fig.13



În funcţie de geometria braţelor active, clipurile pot fi: drepte, curbe, angulate în diverse grade, în baionetă, fenestrate (figura 14). Există şi forme suplimentare: romboidal, triunghiular, trapezoidal (clipul Weck (figura 15), util în cliparea sacului anevrismal când coletul este scurt şi larg – anevrisme sesile).

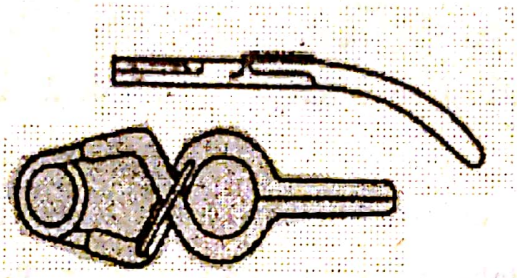
Lungimea braţelor active ale clipului, măsurată între punctul de încrucişare şi vârf variază între 3 şi 20 mm, însă în general se folosesc clipuri cu lungimi între 7 şi 11 mm. Calculul lungimii necesare clipării unui colet anevrismal se face după următoarea formulă:

Scanned with OKEN Scanner

$L=\pi d/2$ sau $L=1.5d$

unde d este diametrul aproximativ al coletului anevrismal.

Fig.14



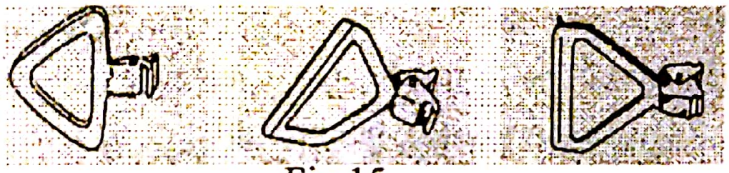
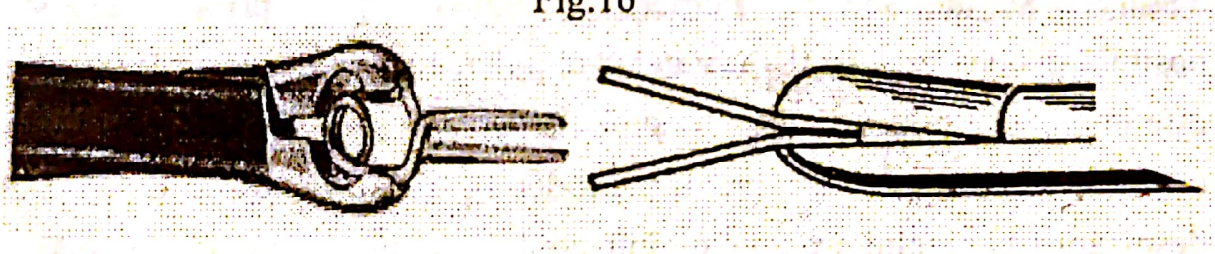


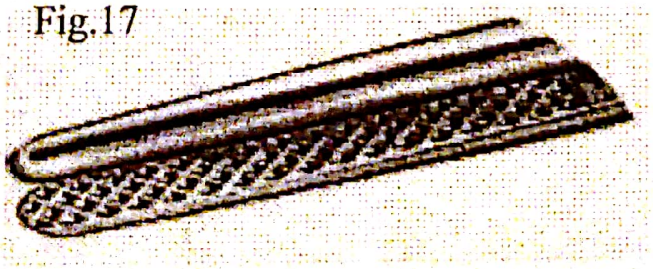
Fig.15

Fig.16



Deschiderea maximă între brațele clipului este de asemenea importantă, putând permite sau nu, o înglobare a anevrismului în clip fără o eventuală compresiune cu pensa a sacului (manevră cu risc de ruptură a anevrismului). De asemenea este important modul de deschidere a bratelor clipului: deschiderea paralela este preferabila deschiderii angulare (figura 16).

Fig.17



Scanned with OKEN Scanner

Fața internă a clipului prezintă diverse rugozități (suprafață ondulată, striații fine cu diverse orientări) în funcție de tipul clipului, cu rol în prevenirea alunecării clipului (figura 17). Aceste rugozități trebuie să fie atraumatice pentru pereții vasului.

Articulația clipului a evoluat şi ea odată cu progresul clipării microchirurgicale:

- articulație fără încrucişare, la care brațele se continuă în sens opus, paralel unul cu celălalt, la nivelul cozii unde se răsucesc cu 360° de mai multe ori (clipul Scoville – figura 18);
- articulație tip pivot, la care brațele separate se articulează prin intermediul unui ax pivot (clipul Weck, Sundt);
- articulație încrucişată, localizată între coadă şi partea activă a brațelor. Aceasta poate fi nesecurizată (clip Mc Faden) sau securizată (clipurile Yaşargil, Sugita, Spetzler, Perneczky) (figura 19). În primul caz este posibilă dislocarea laterală a brațelor clipului, lucru care în al doilea caz este împiedicat printr-o minibară suplimentară (Yaşargil-1970), fie printr-o buclă a unuia dintre brațe (Spetzler), fie prin practicarea unei despicături la nivelul articulației, într-unul din brațe, străbătută de celălalt braț (Yaşargil-1983, Perneczky).

Coada clipului nu trebuie să compromită structurile nervoase şi vasculare adiacente sau să obtureze câmpul vizual operator şi controlul poziționării clipului. În majoritatea cazurilor ea include mecanismul de resort al clipului (11, 12, 17, 29, 34, 37, 39, 43) .

Scanned with OKEN Scanner

Fig.18

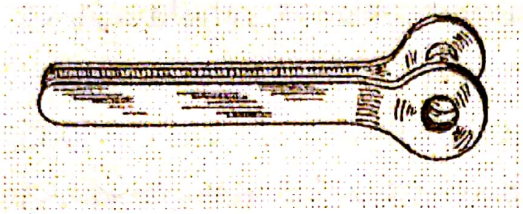
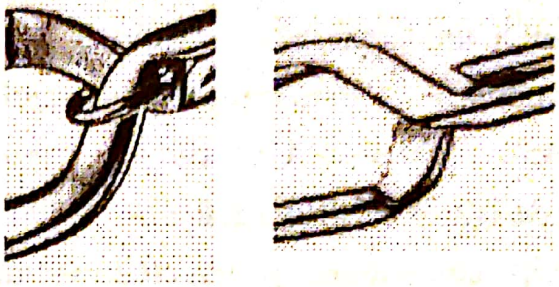


Fig.19



4.3.Tipuri de clipuri autostatice

Au fost introduse în 1955 de către Schwartz. Acesta aplică principiul articulației încrucişate a braţelor, principiu elaborat în 1840 de către Joseph Charriere odată cu realizarea forcepsului tip „bull-dog". Deşi, clipul Schwartz (figura 20) a fost conceput pentru cliparea temporară, în absența altei alternative, el a fost aplicat şi drept clip permanent la mulți pacienți (43).

În 1956 *Mayfield şi Kees*, concep un nou design al clipului Schwartz cu o lungime de 6-15mm, din oțel inoxidabil (O.I 301), un material mai maleabil şi mai rezistent. Clipul temporar Schwartz avea brațele plate (în formă de lamelă), fapt ce poate genera ruptura peretelui arterial prin efectul de forfecare ce apare la nivelul articulației clipului.

Fig.20

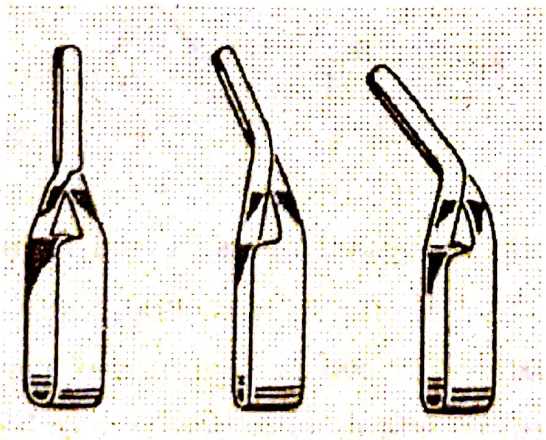
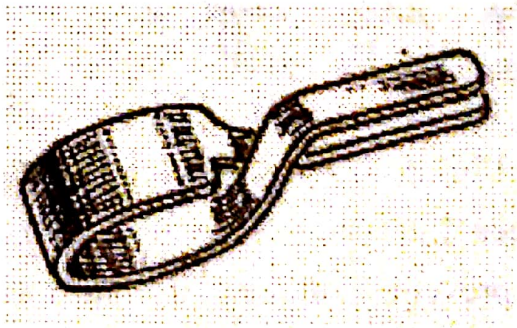


Fig.21



Scanned with OKEN Scanner

Pentru prevenirea rupturii, Mayfield modifică clipul prin practicarea unei fenestrații la nivelul articulației brațelor (figura 21). De asemenea, pentru asigurarea unei mai bune stabilități pe anevrismul clipat, Mayfield adaugă striații paralele pe fața interioară a brațelor clipului (1, 29).

McFaden constată că eficiența clipului ar crește dacă în loc de brațele în formă de lamelă ar fi brațe în formă de bară (biconvexe). Astfel ia naștere un nou clip cu brațele și capetele rotunjite și netede, folosit în cliparea permanentă (27).

În 1964 au fost concepute noi forme ale brațelor clipului pentru facilitarea pasajului la diferite anevrisme (curbe, drepte, unghiulare)(figura 22).

În 1966 *Scoville* concepe un clip care are un resort multispiralat la nivelul cozii și brațele perpendiculare pe axa spiralei (figura 23), putând fi aplicat sau îndepărtat printr-o simplă compresie a capătului proximal. Resortul multispiralat are diametrul aproximativ egal cu grosimea brațelor, ceea ce lasă câmpul vizual operator în mare parte liber în momentul introducerii clipului (a cuplului aplicator – clip) (39).

Fig.22

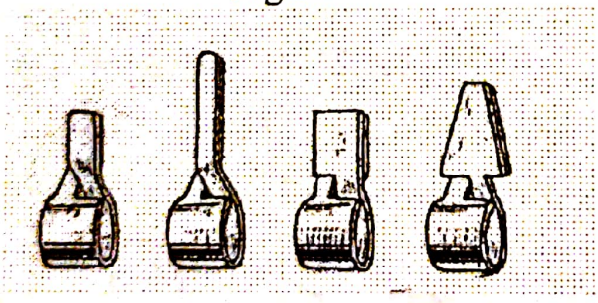
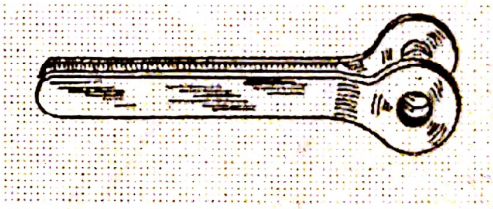


Fig.23



În 1967 *Sundt și Kees* construiesc un clip cu mecanism resort care are un arc atașat între brațele cozii (figura 24). Brațele au formă semicilindrică. Pentru prevenirea alunecării brațele sunt paralele având pe fața internă niște striații. Construiesc și un aplicator ale cărui puncte de compresie se aplică pe brațele cozii clipului. Pe baza acestei idei s-a conceput clipul grefă „clip-graft", al cărui scop inițial era drept tehnică rapidă non-sutură de reparare a

Scanned with OKEN Scanner

plăgilor vaselor intracraniene cu păstrarea circulației în vas. Constă într-un clip Sundt din oțel inoxidabil (O.I 301) cu fața interioară a brațelor active acoperită cu Dacron sau Teflon (43).

Acest concept de clip fusese descris şi aplicat de George *Smith* cu puțin timp înainte. El a folosit pentru realizarea acestuia polietilena. În 1968 *Heifetz şi Weck* concep un alt clip ce prezintă un arc ataşat în jurul axului de pivotare a celor două brațe (figura 25).

Fig.24

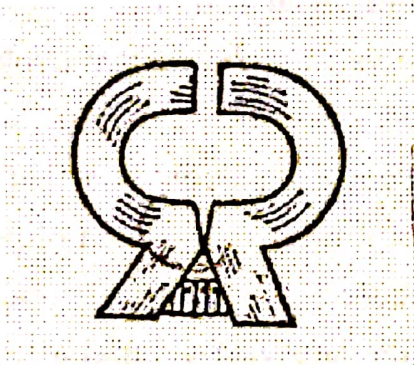
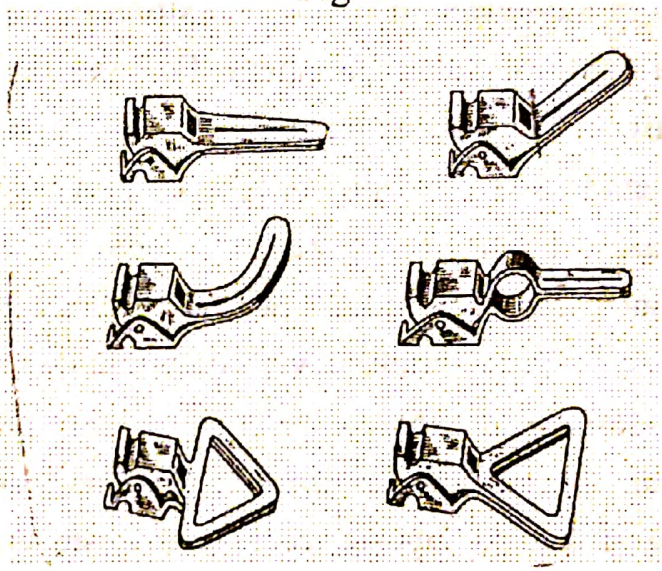


Fig.25



Dezvoltarea propriu-zisă a clipului Heifetz-Weck a început din 1962 prin combinarea principiilor celor două clipuri deja existente: clipul Mayfield cu mecanism de resort şi clipul maleabil Olivercrona şi adăugarea unei spirale interne. Noul clip se putea deschide repetat fără pierderea sau scăderea forței compresive. Pentru prevenirea alunecării s-a schimbat suprafața internă a brațelor din netedă în ondulată. Pentru reducerea tendinței de rupere şi tăiere a brațelor s-a proiectat un spațiu de 0.03 mm în lungul porțiunii mijlocii a brațelor.

Pentru mărirea câmpului vizual în timpul aplicării, vârful aplicatorului s-a proiectat la o grosime care să nu depăşească grosimea clipului. Ataşarea cozii clipului la aplicator se face într-un intrând special confecționat ce dă

multă stabilitate cuplului aplicator – clip. Dimensiunile reduse ale cozii lasă câmpul util chirurgical în cea mai mare parte liber atât în momentul clipării cât şi după îndepărtarea aplicatorului. Vizualizarea efectului clipării şi eventualele manevre de repoziționare se fac mai uşor decât în cazul clipurilorcu coada voluminoasă (19, 36).

Anul 1968 poate fi considerat începutul erei moderne al chirurgiei anevrismului. Utilizarea microscopului operator (microchirurgia) din ce în ce mai des în operațiile neurochirurgicale şi faptul că neurochirurgii erau obligați să navigheze în coridoare extrem de înguste şi profunde realizate de disecția spațiilor subarahnoidiene fără sacrificii de structuri nervoase sau vasculare au necesitat realizarea unor noi design-uri pentru clipuri.

În anul 1968 *Yaşargil* concepe un clip care va schimba radical evoluția următoare a clipurilor (figura 26). Clipul prezintă resortul la nivelul cozii, acolo unde unde cele două brațe se curbează pentru a se continua unul cu altul. Arcul inițial simplu devine o spirală dublu rotată, deschiderea clipului realizându-se prin apăsarea celor două brațe paralele cu axa spiralei. Acest mecanism de resort realizează o forță de închidere adecvată a clipului având totodată şi o codă îngustă, ceea ce măreşte vizibilitatea câmpului operator (46).

Fig.26

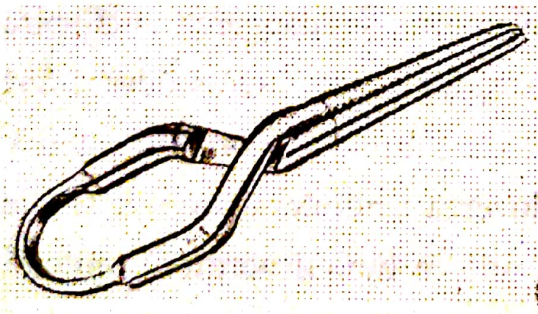


Fig.27

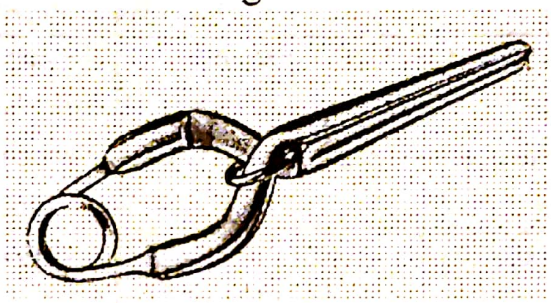
În 1969 *Drake* aduce un nou element inovator şi anume fenestrația dintre brațele clipului (figura 27). Clipul prezintă o mică fenestrație la baza deschiderii brațelor ce permite trecerea vasului purtător şi ocluzionarea

Scanned with OKEN Scanner

coletului anevrismal situat în profunzime. Articulaţia încrucişată favorizează deschiderea paralelă a braţelor cu risc minim de alunecare în cazul în care coletul este clipat în unghiul de deschidere al clipului (6,37).

Anul 1970 aduce noi îmbunătăţiri design-ului clipului anevrismal. Yaşargil îşi perfecţionează clipul adăugând o minibară suplimentară cu rol de securizare a articulaţiei, prevenind astfel alunecarea laterală a braţelor clipului (figura 28). Sugita concepe clipul baionetă care minimizează obstrucţia câmpului vizual operator (15,30, 44).

Fig.28



4.4. Clipurile anevrismale. Avantaje şi dezavantaje.

Tipul de clip	Avantaje	Dezavantaje
Mayfield 1956	- - primul clip autostatic (cu mecanism resort)	Au fost raportate cazuri de: - fracturare: coada mai puţin rezistentă decât braţele - tăiere a coletului anevrismal - - alunecare
McFadden 1964	- braţe în formă de bară, ce facilitează amplasarea intraoperatorie - - forme diferite ale braţelor (clip curbat, drept, angulat în diferite grade) ce facilitează abordul în situaţii anatomochirurgicale particulare	- câmp vizual operator redus (coadă voluminoasă) - articulaţie încrucişată nesecurizată

Scanned with OKEN Scanner

Scoville 1966	- arcul clipului are un diametru aproximativ egal cu lăţimea braţelor, ceea ce scade obliterarea câmpului vizual operator - deschidere paralelă a braţelor în prima fază (în faza a doua de deschidere maximă apare angularea) - a fost folosit în cliparea permanentă sau temporară - poate fi aplicat sub orice unghi în aplicator	- deschidere mică a braţelor
Sundt 1967	- permite cliparea în plan paralel cu vasul - permite autoclavarea repetată	- construit din piese multiple articulate, favorizând coroziunea electrolitică - închiderea şi deschiderea succesivă îl poate deforma cu scăderea presiunii în braţe - - posibilitatea alunecării
Heifetz-Weck 1968	- lamele convexe pe faţa internă, fără acţiune de tăiere - unghi de deschidere mare - obliterare minimă a câmpului vizual operator (coadă mică) - arcul clipului nu prezintă oboseală la cicluri repetate, deci nici pierdere de tensiune în braţe - rugozităţi pe suprafaţa internă a lamelelor, ce previn alunecarea - forme variate (inclusiv poligonale, drepte sau rotunjite) - braţe relativ late pot clipa suprafeţe mari - prindere în aplicator foarte bună (fixă)	- posibilă alunecarea coletului în timpul aplicării clipului din cauza deschiderii angulate în jurul axului pivot - necesită disecţie mai largă ca pentru toatele clipurile cu braţe lamelare - - posibilă coroziune şi fracturare, clipul fiind confecţionat din patru piese distincte

Scanned with OKEN Scanner

Yaşargil 1968 1970 1983 1995	- braţele active sub formă de bare atraumatice pot fi folosite la disecţie - articulaţie încrucişată, care favorizează deschiderea paralelă a braţelor (risc minim de alunecare a anevrismului în momentul clipării)-1968 - mecanism resort dublu spiralat - articulaţie securizată printr-o minibară suplimentară (1970) sau despicătură într-unul din braţe, străbătută de celălalt braţ (1983, 1995) - deschidere realizată prin apăsarea celor două braţe paralele cu axa spiralei	- coadă relativ voluminoasă - nu pot clipa suprafeţe mari (nu pot fi folosite la reducerea volumului unui sac anevrismal de mari dimensiuni)
Drake fenestrat 1969	- permite trecerea vasului purtător prin fenestraţie şi ocluzionarea coletului anevrismal situat în profunzime (pe versantul vasului purtător de partea opusă abordului chiurgical)	- forma lamelară a braţelor
Sugita în baionetă	- imagine clară a relaţiei coletului anevrismal cu braţele active (aplicatorul şi coada clipului prin forma „baionetă" sunt scoase în afara axului vizual) - folosit în cliparea anevrismelor localizate în spaţii înguste acolo unde axul vizual se suprapune cu axul de manipulare a cuplului aplicator-clip pentru celelalte forme de clipuri - poate fi folosit ca braţe active angulare când cliparea se practică în al	- disecţia şi retracţia perianevrismală trebuie să fie ceva mai largă (pentru a oferi spaţiu celor două axe ale sistemului baionetă): axul de manipulare ce corespunde cozii şi axul de vizualizare ce corespunde braţelor active)

Scanned with OKEN Scanner

	doilea unghi al baionetei	
Perneczky 1995	- aplicatorul se ataşează în interiorul cozii şi astfel scade obturarea câmpului vizual chirurgical	

4.5. Complicaţii, dificultăţi şi posibilităţi de perfecţionare a utilizării clipurilor anevrismale

4.5.1. Complicaţii date de tehnica chirurgicală

Principalele complicaţii legate de tehnica operatorie de clipare sunt:

- ruptura anevrismală intraoperatorie;
- ischemia prin ocluzionarea sau trombozarea vasului purtător sau a colateralelor;
- ischemia prin vasospasm datorată manipulării vasculare;
- ischemia prin sacrificii vasculare (arteriale sau venoase) în timpul abordului;
- leziuni ale structurilor nervoase învecinate (parenchim cerebral, nervi) prin tracţiune sau coagulare;
- complicaţii infecţioase.

Cu toate aceste dificultăţi, rata complicaţiilor postoperatorii importante pentru pacienţii în stare bună este sub 5% în raportările echipelor performante.

4.5.2. Complicaţii date de design-ul clipului

a) La aplicarea unui clip pot apărea probleme ca:

- Ruptura sacului anevrismal
- Alunecarea clipului de pe anevrism

Scanned with OKEN Scanner

- Cliparea incompletă a coletului anevrismal (reziduu anevrismal postclipare)
- Ocluzia vasului purtător sau a unor colaterale
- Efect compresiv al clipului asupra unor structuri nervoase sau vasculare vecine.

Aceste dificultăți pot fi evitate dacă se folosesc clipuri de dimensiuni corespunzătoare fiecărui tip şi formă de anevrism, clipuri cu construcția brațelor în formă de bară şi aplicatoare specifice tipului de clip.

Complicații la aplicare	Posibilități de îmbunătățire
Ruperea sacului anevrismal, prin forfecarea clipului Reziduu anevrismal Disecție largă Unghiul de deschidere al clipului Angulația vasculară Coada clipului nu trebuie să compromită structurile nervoase sau vasculare vecine	Înlocuirea brațelor lemelare cu unele în forma de bară, mult mai netraumatice O diversitate de forme şi dimensiuni ale clipurilor Realizarea mecanismului resort, pentru deschidere paralelă a brațelor clipului Pentru evitarea angulației vasculare, clipul se plasează cu brațele paralele cu axul vasului purtător de anevrism

Anevrismul este de obicei înconjurat de bride arahnoidiene mai mult sau mai puțin fine care se disecă meticulos până la o bună vizualizare a coletului anevrismal şi a configurației vascularizației locale.

Obişnuit intervenția microchirurgicală de clipare anevrismală implică disecția vasului purtător dinspre proximal spre anevrism, sub microscopul operator, cu instrumente microchirurgicale. Această disecție oferă posibilitatea plasării unui clip temporar în cazul rupturii intraoperatorii a anevrismului.

Scanned with OKEN Scanner

Obliterarea câmpului vizual operator este dată de aplicator şi coada clipului. Când această obliterare împiedică vizualizarea clară sau manipularea braţelor active ale clipului faţă de colet este necesară schimbarea poziţiei de clipare sau alegerea unui alt clip (de formă sau mărime diferită sau de un alt tip). La obliterarea câmpului operator contribuie:

- Forma clipului;
- Coada clipului;
- Mecanismul resort al clipului;
- Aplicatorul folosit;
- Punctul de ataşare al aplicatorului la clip.

Unele din dificultăţi pot fi înlăturate prin aplicarea unui clip în baionetă, acolo unde situaţia o impune, realizarea unei cozi a clipului cât mai înguste şi mai subţiri, a unui mecanism resort plasat cât mai aproape de coada clipului sau ataşat între cele două braţe ale clipului, în apropierea punctului de încrucişare. Acest ultim sistem ar avea avantajul unei obliterări minime de către complexul aplicator-clip a câmpului vizual în timpul clipării (clipul Perneczky).

Uneori este necesară aplicarea de clipuri multiple, de forme asemănătoare sau variate pe acelaşi anevrism. Aceste anevrisme „dificile" sunt îndeosebi anevrismele mari şi gigante, anevrismele polilobate, anevrismele cu pedicul larg (sesile), anevrismele ce prezintă ramuri vasculare cu origine în sacul anevrismal.

În vederea evitării pe cât posibil a complicaţiilor legate de clipare, de alegerea optimă a tipului de clip , recent s-au realizat programe software pentru simularea tehnicilor chirurgicale de abord şi clipare.

Simularea tehnicii chirurgicale de clipare a unui anevrism intracranian prin intermediul calculatorului se pare că va deveni una din opţiunile, care va facilita intervenţia chirurgicală propriu-zisă ulterioară. În departamentul de

Scanned with OKEN Scanner

neurochirurgie al Universității de Medicină Shinshu din Matsumoto, Japonia s-a elaborat un astfel de program.

Acest program poate să aproximeze prin *„function spline"* parametrii necesari simulării, parametrii obținuți prin interpolarea și suprapunerea imaginilor angiografice convenționale.

Grafica computerizată oferă și alte facilități ca: scalări, rotiri, colorarea diferită și de intensități variabile în obținerea unei simulări cât mai apropiate de real. Prin folosirea acestei metode este posibilă obținerea chiar și a unei simulări chirurgicale realizată prin neuronavigație (23, 24).

Complicații date de fracturarea clipului

Fracturarea unui clip este la ora actuală, practic imposibilă.

Cazurile de fracturare ale unui clip sunt destul de rare și puțin menționate în literatură. Cauza fracturării clipului o constituie metalul din care este alcătuit. S-a constatat că dacă la realizarea unui clip se folosesc mai multe tipuri de metale, cu timpul în clip are loc o coroziune care va duce în final la fracturare.

Un caz menționat în literatura de specialitate este cel al unui clip drept, mediu Heifetz. Donald O. Quest și colaboratorii relatează în 1977 eșecul mecanic al acestui clip.

Clipul Heifetz a fost aplicat pe un anevrism de comunicantă posterioară, la o pacientă de 59 ani. La patru luni după intervenție, arteriografia de control efectuată arăta o completă obliterare a anevrismului, clipul fiind intact. După zece luni pacienta s-a prezentat din nou, fiind internată pentru intervenția chirurgicală a unui alt anevrism situat pe artera cerebrală medie. Radiografia simplă a evidențiat clipul plasat anterior având brațele complet separate. În urma intervenției chirurgicale s-a observat că unul din brațe era fracturat, în timp ce mecanismul de resort era intact (36, 41). În cazul acestui clip se pare că fracturarea a fost provocată de condițiile tehnologice de fabricare a clipului.

Scanned with OKEN Scanner

4.5.3. Coroziunea la suprafața clipului

Coroziunea reprezintă destrucția metalului rezultată în urma reacției electrochimice. Constă în oxidarea metalului la anod şi reducerea acestuia la catod. Suprafața heterogenă a unui aliaj sau metal pur contaminat cu impurități poate forma o pilă galvanică, ceea ce duce la corodare. Coroziunea depinde de uşurința de ionizare a metalului. Energia acestui proces reversibil de ionizare numit transferul ionilor metalici în soluție şi transferul invers în metal, poate fi măsurată ca potențial chimic sau electric.

Toate metalele supuse proceselor de purificare tind să se corodeze spontan, eliberând energia potențială (energie liberă Gibbs) stocată în timpul procesului de rafinare. Doar metalele nobile ca Au, Pt, Pd, Y nu au nevoie de rafinare şi sunt complet stabile în condiții atmosferice. Metalele seminobile în schimb(Cu, Ag, Mg) sunt stabile în condiții atmosferice doar în lipsa oxigenului.

În anul 1972, McFadden a publicat rezultatele obținute în ceea ce priveşte reacția țesuturilor la diferite implanturi metalice plasate intracranian şi intraspinal.

Tendința la coroziune a diferitelor tipuri de metale s-a măsurat pe baza diferenței dintre căderea de potențial şi rezistența internă este numită şi „anodic back emf". S-a constatat că metalele compatibile cu țesutul viu, cu posibilă utilizare ca implanturi au un „anodic back emf" mai mare de 300mV (Au, Pt, tantal, Ti) şi nu înregistrează nici o pierdere în greutate.

Pierderea în greutate a metalelor le face incompatibile cu țesutul viu, din cauza posibilelor depozitări de metal în țesut, cauză de citotoxicitate (28). Se poate concluziona că inevitabila coroziune este influențată de oricare din următorii factori:

- compoziție chimică;
- deformări mecanice;
- formarea la rece;

Scanned with OKEN Scanner

- suprafețe discontinue (fisuri);
- prezența oxigenului;
- folosirea diferitelor aliaje la realizarea aceluiaşi clip.

Alcătuirea clipului din patru elemente, alături de fenomenele electrolitice posibile între elementele constituente sunt ipotezele demon-strate ale coroziunii. Coroziunea prin reacție electrolitică, apare mai intens dacă diversele părți ale clipului sunt realizate din aliaje diferite (7,28).

Complicațiile coroziunii	Evitarea coroziunii
Fracturarea clipului Reacții citotoxice	Folosirea unui singur aliaj în componența clipului Compoziție chimică riguros controlată

Factori favorizanți ai coroziunii sunt:

- folosirea de metale diferite pentru realizarea aceluiaşi clip;
- compoziția chimică a aliajului metalic;
- procedeele de elaborare a aliajului şi cele de formare a clipului.

4.5.4. Complicații date de alunecarea clipului

Alunecarea clipului este o complicație nedorită ce poate apare în timpul clipării şi după clipare. Alunecarea observată în timpul operației poate fi corectată prin repoziționarea clipului, schimbarea clipului sau adăugarea de clipuri suplimentare. Alunecarea postoperatorie nu a mai fost citată pentru clipurile moderne. Alunecarea parțială sau totală duce la repermiabilizarea anevrismului (repătrunderea sângelui în anevrism) şi reapariția riscului de ruptură.

Scanned with OKEN Scanner

Alunecarea clipului trebuie diferențiată de cliparea incompletă ca tehnică chirurgicală (fie ca tehnică incorectă de aplicare a clipului care nu ocluzionează în întregime coletul, fie ca opțiune impusă de condițiile intraoperatorii: păstrarea permeabilității vaselor colaterale ce emerg din anevrism, disponibilitate limitată de clipuri ca varietate de forme și dimensiuni în anevrismele dificile. În eventualitatea clipării incomplete impusă de condițiile intraoperatorii de obicei restul anevrismal neclipat se acoperă cu mușchi (wrapping).

Prima complicație de acest gen (alunecarea clipului) a fost semnalată în literatură în 1963 de către Eben Alexander, la un clip Mayfield (1).

Pentru prevenirea alunecării s-au utilizat de-a lungul evoluției clipului realizarea unor forme diverse de striații pe fața internă a brațelor clipului, care să fie în același timp și atraumatice. De asemenea s-a calculat forța de închidere a clipului suficient de mare pentru a evita alunecarea, dar fără a produce leziuni ale peretelui vascular.

Un alt caz de alunecare este semnalat în literatură de către Drake (1973), care descrie cu această ocazie și un nou tip de clip, clipul fenestrat. "Incompleta obliterare a sacului anevrismal nu este rară chiar și pentru un chirurg experimentat și poate fi dezastruoasă dacă provoacă sângerarea anevrismului" (13). Printre soluțiile sugerate de Drake pentru prevenirea alunecării se numără: "brațele clipului trebuie să treacă de coletul anevrismal probabil cu 2-3 mm dacă zona imediat învecinată permite. O altă metodă în prevenirea alunecării este folosirea unui clip care să înconjoare artera purtătoare a anevrismului (clipul Sundt) sau a unui clip care să aibă o deschidere la baza sa pentru a trece vasul purtător prin ea, iar brațele anevrismului să ocluzioneze coletul anevrismal, situat sub vasul purtător (clipul Drake fenestrat)" (6, 13). De asemenea pentru prevenirea alunecării, când presiunea este mare la nivelul coletului, poate fi aplicat un clip ajutător. Clipul suplimentar poate fi aplicat lângă clipul inițial, paralel sau perpendicular. "În opinia noastră, amplasarea a două clipuri unul peste altul

Scanned with OKEN Scanner

determină o presiune cumulativă, cât şi posibilităţi de alunecare imprevizibile între clipuri, ceea ce face ca tehnica să fie aplicată cu maximă prudenţă" (13, 30).

De asemenea în literatură s-a semnalat şi un caz de deplasare a clipului în câmp magnetic. O pacientă de 74 ani a decedat în urma investigaţiei RMN, deoarece clipul raportat ca fiind neferomagnetic era de fapt feromagnetic, drept consecinţă clipul s-a mişcat în câmp magnetic, provocând torsionarea arterei cerebrale medii, ceea ce a determinat o hemoragie intracraniană cu decesul pacientei (22).

S-a constatat că, proprietăţile feromagnetice ale unui clip pot fi cauzate de diferitele procese de manufacturare, de împachetarea clipului, de sterilizarea şi depozitarea acestuia şi de manipularea acestuia imediat înainte de implantare (21).

Evitarea alunecării clipului
• Clipuri a căror lungime a braţelor să depăşească diametrul coletului anevrismal
• Practicarea unor striaţii atraumatice pe faţa internă a braţelor clipului
• Aplicarea unui clip suplimentar
• Aplicarea unui clip fenestrat

4.5.5. Reacţia tisulară cerebrală

Reacţia tisulară cerebrală la introducerea unui implant neurochirurgical metalic a fost studiată încă din 1942 de către Pudenz. Rezultatele obţinute de el au fost preluate şi îmbunătăţite de către Collians, A. Dymond şi McFadden (35). Collians şi Maneulidis au descris reacţia implanturilor metalice in creier. Ei au implantat in creierul pisicilor electrozi filiformi de oţel inoxidabil emailat. Au studiat reacţiile pe o perioadă de la o zi la şase luni. Încă din prima zi au constatat o hemoragie şi o invazie leucocitară în jurul implantului. chiar şi o demielinizare şi edem (3).

Scanned with OKEN Scanner

Urmând aceste cercetări, Dymond studiază toxicitatea mai multor metale: platina şi aliajele sale, aurul cu aliajele sale, argintul şi oţelul inoxidabil. După două luni de implantare în creierul pisicilor el a constatat că majoritatea metalelor, cu excepţia argintului sunt nontoxice (16).

În 1969, McFadden trece în revistă principiile metalurgice aplicabile în practica neurochirurgicală. El constată că metalele compatibile cu ţesutul viu, cu utilizare posibilă ca implanturi trebuie să aibă un „*anodic back emf*" mai mare de 300mV (Au, Pt, tantal, Ti) şi nu înregistrează nici o pierdere în greutate. Pierderea în greutate a metalelor le face incompatibile cu ţesutul viu, din cauza posibilelor depozitări de metal în ţesut, cauză de citotoxicitate."(28)

În 1972 publică rezultatele obţinute în ceea ce priveşte reacţia ţesuturilor la diferite implanturi metalice plasate intracranian şi intraspinal. În acest studiu, McFadden implantează la 10 câini piese din diferite metale. "Reacţiile tisulare corespund caracteristicilor electrochimice ale acestor metale. Tantalul provoacă reacţii mai puţin severe în comparaţie cu argintul, însă amândouă provoacă reacţii imflamatorii. Diversele tipuri de aliaje inoxidabile cauzează reacţii tisulare in funcţie de gradul de ionizare al metalului"(26).

Se poate concluziona că metalele care nu provoacă reacţii tisulare adverse sunt: oţelul inoxidabil austenitic tip 316, 316L, 317, superaliajele pe bază de Co – Phynox, Elgiloy, Titanul pur şi aliajele de Titan (TiAl6V4).

4.5.6.Complicaţii date de incompatibilitatea neuroimagistică

În ultimele decenii, clipurile anevrismale au constituit elementele chirurgicale primordiale în managementul anevrismelor cerebrale. Odată cu introducerea tehnicilor moderne de investigaţie CT şi RMN proprietăţile cerute de la un clip au crescut, în mare parte din cauza incompatibilităţii neuroimagistice.

Scanned with OKEN Scanner

Studiile recente au arătat că majoritatea clipurilor anevrismale provoacă artefacte imagistice în câmp magnetic rezonant şi în CT (14, 20,21,22).

De asemenea în literatură s-a semnalat şi un caz de deplasare a clipului în câmp magnetic. O pacientă de 74 ani a decedat în urma investigaţiei RMN, deoarece clipul raportat ca fiind neferomagnetic era de fapt feromagnetic, drept consecinţă clipul s-a mişcat în câmp magnetic, provocând torsionarea arterei cerebrale medii, ceea ce a determinat o hemoragie intracraniană cu decesul pacientei (22).

S-a constatat că, proprietăţile feromagnetice ale unui clip pot fi cauzate de diferitele procese de manufacturare, de împachetarea clipului, de sterilizarea şi depozitarea acestuia şi de manipularea acestuia imediat înainte de implantare (21).

Complicaţii imagistice	**Evitarea complicaţiilor**
Slabă transparenţă radiologică	Folosirea unor materiale paramagnetice, care au susceptibilitate magnetică mică
Artefactare imagistică CT şi RMN	Respectarea riguroasă a normelor ASTM impuse materialului metalic
Mişcare în câmp magnetic	Respectarea condiţiilor de procesare a clipului

În urma cercetărilor efectuate pe diferite clipuri: Drake, Mayfield, Heifetz, Scoville, Yaşargil 316, McFadden Vari-Angle, Yaşargil Phynox, Sugita Elgiloy, Sugita Titanium, s-a concluzionat că un clip nonferomagnetic trebuie să aibă o valoare mai mică de 1 emu (unităti electromagnetice), iar artefactarea minimă este dată de materiale ca: Ti pur (1), aliaje de Ti (2.5), aliaje de Co (6-7.5). (38, 44)

Scanned with OKEN Scanner

5. Caracteristici de bază ale unui clip anevrismal

Cunoaşterea caracteristicilor clipului este necesară în alegerea tipului de clip corespunzător anevrismului. Cele mai importante caracteristici sunt:

- presiunea în clip ce dă şi rezistenţa la alunecare;
- deschiderea maximă a braţelor;
- lăţimea şi grosimea lamelelor;

Conform unui studiu comparativ al presiunii din diferite tipuri de clipuri, realizat în 1975 de Sugita şi colaboratorii lui, pe clipuri ca: Heifetz (12mm, 8mm lungime), Scoville (8mm, 5mm lungime), Yaşargil (10mm), Sugita (10mm), Keer (15mm), Olivercrona, respectiv clipuri de argint, s-a constatat că presiunea între braţele clipului variază de la 30gm la 240gm.

De exemplu pentru clipul Keer, presiunea este de 125gm atunci când este supus la o tensiune de deschidere maximă şi de doar 50gm, când forţa exercitată asupra deschiderii este slabă. Alte valori determinate: Yaşargil-120gm, Sugita-80gm, Scoville-80gm, Heifetz-30gm, McKenzie, Olivercrona-240gm.

Determinarea presiunii s-a făcut suspendând fiecare clip între un rotor şi o balanţă dinamometrică, cu ajutorul a două fire ataşate cu un capăt la câte un braţ al clipului, iar cu celălalt capăt la balanţă, respectiv la rotor. Presiunea obţinută a fost o medie între presiunile măsurate de la vârful braţelor până la articulaţie.

Sugita consideră că: "pentru o clipare permanentă a unui anevrism, cu prevenirea alunecării este necesară o presiune de peste 80gm, în timp ce pentru o clipare temporară a vaselor purtătoare presiunea trebuie să fie sub 80gm". Pentru clipurile Yaşargil, forţa de închidere, evaluată la 1/3 din lungimea braţului faţă de vârf, este de 150-200gm pentru clipurile standard permanente şi 90-130gm pentru clipurile standard temporare.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru majoritatea clipurilor presiunea creşte proporţional cu unghiul de deschidere. (42)

În 1977 odată cu descoperirea unei metode mai simple de determinare a presiunii de închidere a clipurilor (folosind un dinamometru Jonard), DeLong a constatat că presiunea depinde nu doar de forţa exercitată de mecanismul resort ci şi de lungimea şi forma braţelor clipului. (8).

Actualmente forţa de închidere a clipului este măsurată cu un dispozitiv computerizat, bazat pe principiul dinamometrului clasic.

Forţa de rezistenţă la alunecare este de 75gm în clipul Yaşargil, 50gm în clipul Sugita, 15gm în clipul Keer şi 5gm pentru restul clipurilor.

Rezistenţa la alunecare a clipului depinde de:

- presiunea în clip;
- lăţimea şi adâncimea striaţiilor feţei interne a lamelei;
- presiunea sangvină;
- calibrul şi consistenţa vaselor.

În ceea ce priveşte lăţimea şi grosimea lamelelor, se consideră că pentru o clipare permanentă cele mai indicate sunt clipurile cu lamele înguste, în timp ce pentru o clipare temporară se preferă clipurile cu lamele late. (42)
Majoritatea firmelor testează presiunea de închidere a clipului înainte de a-l livra pentru ca aceasta să se încadreze în parametrii standard înscrişi pe certificatul implantului.

5.1. Materiale utilizate în producerea clipurilor anevrismale

Pe lângă condiţiile generale de biocompatibilitate materialele folosite în confecţionarea clipurilor trebuie să îndeplinească şi alte condiţii, cum ar fi:

- elasticitate;
- rezistenţă;
- compatibilitate cu sterilizarea;

Scanned with OKEN Scanner

- rezistență la coroziune;
- să fie neferomagnetice (să aibă susceptibilitate magnetică scăzută);
- sa dea artefacte imagistice minime sau deloc (transparență radiologică).

Încă din 1970, Dymond menționa că platina, aurul şi aliajele lor, precum şi tantalul, vitallium-ul şi oțelurile inoxidabile nu sunt toxice, în schimb argintul prin impuritățile pe care le conține poate fi responsabil de apariția zonelor de necroză. De asemenea se menționa că este contraindicat să se utilizeze la acelaşi bolnav clipuri de diferite compoziții pe motivul corodării electrolitice din mediul biologic.

Alegerea materialului este o problemă delicată ținând seama în primul rând de posibilele reacții nedorite: coroziunea metalului şi necroza țesuturilor adiacente.

Coroziunea şi fracturarea clipului a fost semnalată în literatură încă din anii "70, în special pentru clipurile Heiftz-Weck din oțel inoxidabil (clipuri confecționate din patru piese distincte: două brațe, un ax şi un resort).

În anul 1969, McFadden trece în revistă principiile metalurgice aplicabile în practica neurochirurgicală, iar în 1972 publică rezultatele obținute în ceea ce priveşte reacția țesuturilor la diferite implanturi metalice plasate intracranian şi intraspinal. Acesta a constatat că metalele compatibile cu țesutul viu, cu utilizare posibilă ca implanturi au un potențial anodic mai mare de 300mV (Au, Pt, tantal, Ti) şi nu înregistrează nici o pierdere în greutate.

În 1977, DeLong şi colaboratorii, în urma unei analize metalurgice a zece tipuri de clipuri, constată că o rată crescută a coroziunii rezultă prin reacția electolitică dintre diferitele aliaje care compuneau elementele clipului (7). Toate aceste considerații explică evoluția materialelor utilizate în fabricarea clipurilor:

Scanned with OKEN Scanner

Argintul – s-a considerat că este toxic pentru organism prin formarea unor depozite oxidice. Pudenz a demonstrat că argintul provoacă o reactie inflamatorie intensă (16, 17)..

Oţelul inoxidabil (O.I) austenitic – este cel mai rezistent la coroziune dintre O.I ; proporţia mică de carbon îl face inert şi maleabil. Iniţial s-au folosit tipurile: 301, 302 ce au fost abandonate din cuza rezistenţei reduse la coroziune. Astăzi sunt utilizate tipurile 316, 316L, 317 ce sunt aliaje de CrNiMo – CrNiMo1812 (clipul Yaşargil - Aesculap), CrNiMo18143 (clipul Yaşargil 1970 - Aesculap)

Vitallium este un oţel inoxidabil pe bază de Co, Cr, Ni, Mo (65%Co, 30%Cr, 5%Mo, 0.3%C). Reprezintă tipul cel mai inert de O.I folosit pentru securizarea articulaţiei clipului.

Deşi aceste oţeluri inoxidabile sunt nonmagnetice, formarea la rece a clipului poate produce o rearanjare în structura atomică a metalului cu favorizarea formării carburilor care duc la coroziunea metalului şi transformarea în material magnetic. Clipul articulat din O.I austenitic are braţele nonmagnetice, dar spiala este magnetică din cauza prelucrării ei la rece (îndoire). De asemenea închiderea şi deschiderea clipului accentuează acest lucru.

O altă posibilă explicaţie a coroziunii apărute în clipurile articulate o constituie şi faptul că morfologia acestuia conţine 4 elemente (2 braţe, axul pivot, arcul).(28, 34)

Deşi numeroase, aceste aliaje nu îndeplinesc condiţiile unei implantări permanente în organismul viu. Motivele sunt numeroase:

- se constată o degradare lentă a tuturor componentelor majore din aliaj, cu depozitarea în ţesuturile vecine,
- efectul final al depozitări este încă necunoscut,
- există un efect carcinogen,

Scanned with OKEN Scanner

- toate O.I folosite în implanturi ortopedice au fost îndepărtate din cauza reacţiilor inflamatorii.

Recent s-a trecut la folosirea altor tipuri de aliaje, cum ar fi:

Superaliaje pe bază de Co – Phynox şi Elgiloy (Aesculap). Acestea sunt nonferomagnetice, au o înaltă rezistenţă la coroziune şi proprietăţi metalurgice(rezistenţă, elasticitate) care le permit utilizarea în implanturile intracraniene. Problema care se ridică la aceste aliaje este că sunt dificil de obţinut şi dau artefacte RMN destul de mari.

Titanul comercial pur (Spetzler) este mecanic echivalent cu aliajele de cobalt, este neferomagnetic, prezintă o înaltă stabilitate la temperatură şi rezistenţă la coroziune.

Aliajele de Titan (TiAl6V4) reprezintă echivalentul ideal al Ti pur, dau artefacte RMN minime şi pot fi autoclavate (270°F-3min, 30min uscare, 150 de cicluri de sterilizare)(25).

5.2. Clipuri moderne. Caracteristici

Odată cu evoluţia tehnicii care a făcut posibilă stabilirea anumitor principii şi explicarea amănunţită a fenomenelor ce pot apărea în material, precum şi cu dezvoltarea unor noi tehnici microchirurgicale, pe piaţa medicală au apărut noi tipuri de clipuri produse de firme de renume cum ar fi: Aesculap, Codman etc.

Clipul Yaşargil produs din aliaj de Co (Phynox) sau aliaj de Ti are următoarele caracteristici constructive:

Lungimea braţelor 3-25mm
Lăţime braţe 1.5mm
Deschidere 3.2-13.3mm
Forţă de închidere 110-200g

Clipurile din Pynox sunt sigure în utilizare, având 1 emu (unitate electromagnetică) drept caracteristică magnetică.

Scanned with OKEN Scanner

Clipurile din Ti sunt non feromagnetice şi compatibile MRI, având şi o excelentă biocompatibilitate. Realizează o ocluzie bună a vaselor.

Clipul Sugita produs din aliaj de Co (Elgiloy) are următoarele caracteristici constructive:

Lungimea braţelor 5-40mm
Lăţimea braţelor 1mm
Deschiderea 4-19mm
Forţa de închidere 100-200g

Clipul Sugita din aliaj de Ti prezintă următoarele caracteristici constructive:

Lungimea braţelor 5-30mm
Lăţimea braţelor 1.1-1.2mm
Deschiderea 5.3-10.4mm
Forţa de închidere 150-200g

5.3. Soluţii moderne pentru îmbunătăţirea clipului anevrismal

Deşi progresul tehnic a făcut posibilă modernizarea clipurilor prin explicarea anumitor fenomene ce apar în materialele metalice şi stabilirea principiilor de bază ale implantării unui biomaterial, variatele tipuri de clipuri existente până în prezent nu sunt perfect adaptate oricărei situaţii operatorii.

Realizarea unui design al clipului cât mai compatibil cu situaţiile chirurgicale este o continuă provocare pentru bioinginerii medicali.

Începând cu anul 1990, odată cu tehnicile avansate de design s-au dezvoltat şi noi metode de fabricare a clipului. S-au încercat noi îmbunătăţiri ale formei clipului şi noi metode de reducere a obliterării câmpului vizual operator, de către complexul aplicator-clip, cât mai mici. Prin perfecţionarea clipurilor Yaşargil, Sugita, Sundt-Kees acestea au devenit clipurile cele mai utilizate în neurochirurgia vasculară.

Scanned with OKEN Scanner

În 1995, M.Osawa aduce o modificare clipului Sugita în baionetă, prin modificarea unghiului dintre picior şi lamelele active. El micşorează unghiul, făcându-l din obtuz, drept. Prin această modificare se poate obține o ocluzie completă a unui colet anevrismal neregulat, lucru care cu un clip Sugita în baionetă nu este obținut. De asemenea, prin această îmbunătățire scade nevoia unei întăriri suplimentare a anevrismului clipat.(31)

William Cuatico sugerează un nou design al vârfului, prin eversarea acestuia (vârf neted şi în afară – figura 29). „La închiderea clipului , vârfurile brațelor sunt separate la o distanță de 0.75 mm diametrul rotunjimii vârfurilor este de 0.4 mm; lățimea totală a vârfurilor fiind de 1.55 mm. Această formă a vârfurilor ar fi utilă la cliparea verticală a unui anevrism al
cărui colet nu poate fi separat de structurile învecinate şi în cazul unei disecții netraumatice a anevrismului.(4) Dezavantajul acestei forme este că poate provoca dificultăți în inserțiile în câmpuri operatorii înguste.

Fig.29

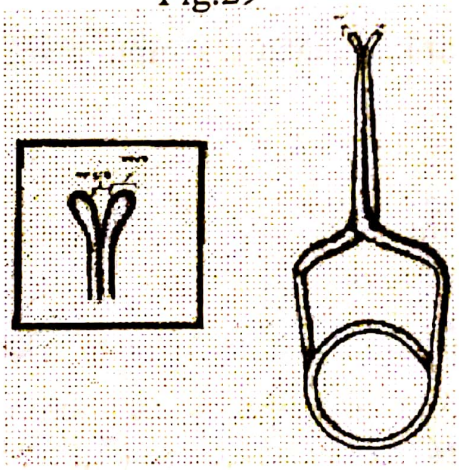
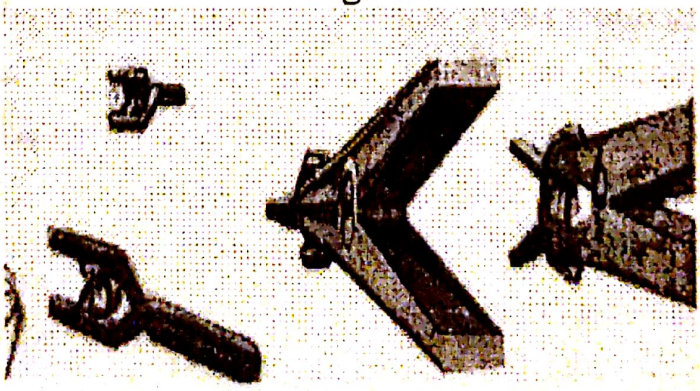


Fig.30



Scanned with OKEN Scanner

Pentru realizarea unei obliterări minime a câmpului vizual operator de către complexul aplicator-clip, Perneczky dezvoltă un nou concept de clip. Acesta are resortul spiralat plasat între cele două brațe ale cozii, în apropierea punctul ui de încrucişare.

Deschiderea clipului se realizează prin apăsarea celor două brațe, perpendicular pe axul resortului la nivelul cozii dinăuntru în afară. Prin realizarea acestui clip s-a impus şi realizarea unui aplicator special, ale cărui brațe de prindere a clipului se introduc în interiorul cozii clipului. Prin apăsarea mânerelor aplicatorului are loc deschiderea clipului, invers decât la restul aplicatoarelor. Prin relaxarea mânerelor se obține închiderea clipului (figura30) (32).

6. Experiența personală

Analizăm 79 de cazuri consecutive de anevrisme clipate microchirurgical în perioada: 1994 - 1999. Clipurile avute la dispoziție pe toată această perioadă au fost: clipuri Heifetz-Weck (disponibile într-o gamă variată de forme şi dimensiuni), clipuri Cushing şi clipuri McFadden drepte (în trei variante dimensionale) cu mecanism de resort dublu spiralat, pentru cliparea permanentă. Ocazional s-au folosit şi clipuri Scoville, Yaşargil şi Sugita.

Localizarea anevrismelor a fost în 32 de cazuri pe artera comunicantă anterioară, în 22 de cazuri pe artera cerebrală medie, în 21 de cazuri pe artera comunicantă posterioară, în 2 cazuri pe artera oftalmică, în câte un caz pe artera pericaloasă, la bifurcația arterei carotide interne şi pe artera cerebeloasă posteroinferioară (PICA). Acest studiu a inclus şi un caz de anevrism multiplu localizat pe artera cerebrală medie şi pe artera comunicantă posterioară.

Din 80 de anevrisme 77 au fost clipate. În celelalte trei cazuri, într-unul s-a practicat ligaturarea coletului anevrismal pentru un anevrism situat pe artera comunicantă anterioară, în altul, un anevrism fusiform de pe artera

Scanned with OKEN Scanner

cerebrală medie a fost învelit în muşchi (*wrapping*) şi în cel de-al treilea caz s-a realizat învelirea într-un fragment muscular a unui anevrism de comunicantă posterioară urmată de ligatura arterei carotide interne.

Ocluzionarea completă a anevrismului a fost evaluată direct în timpul operaţiei şi angiografic, postoperator în cazurile de necesitate şi în cele în care pacienţii au fost de acord (38 din 76 de cazuri clinice).

Ocluzie completă a sacului anevrismal a fost obţinută la 70 de anevrisme. În 7 cazuri s-a constatat o ocluzie incompletă a anevrismului (din cauza păstrării vaselor colaterale ale anevrismului şi a poziţiei coletului dificil de clipat): 3 cazuri de anevrisme situate pe artera comunicantă anterioară, 2 cazuri de anevrisme situate pe artera cerebrală medie şi 2 cazuri situate pe artera comunicantă posterioară. Toate anevrismele incomplet clipate au fost învelite în muşchi la sfârşitul operaţiei. Tipul şi numărul clipurilor folosite este indicat în tabelul 1 şi tabelul 2:

Tabelul 1

Clip	*Anevrisme situate pe artera comunicantă anterioară*	*Anevrisme situate pe artera cerebrală medie*	*Anevrisme situate pe artera comunicantă posterioară*	*Alte localizări*	***Total***
Heifetz-Weck	*30*	*25*	*14*	*5*	*74*
Cushing	*7*	*16*	*5*	*-*	***28***
Mc Fadden	*4*	*1*	*5*	*3*	***13***
Yasargil	*3*	*1*	*3*	*-*	*7*
Sugita	*2*	*1*	*-*	*-*	*3*
Scoville	*1*	*-*	*-*	*-*	***126***

Tabel 2

Număr clipuri folosite la clipare	*Anevrisme situate pe artera comunicantă anterioară*	*Anevrisme situate pe artera cerebrală medie*	*Anevrisme situate pe artera comunicantă posterioară*	*Alte localizări*	*Total (77 de anevrisme clipate)*
1	*22*	*10*	*14*	*2*	*48*

2	4	7	5	3	19
3	4	1	1		6
4		1			1
5	1				1
6		1			1
7		1			1

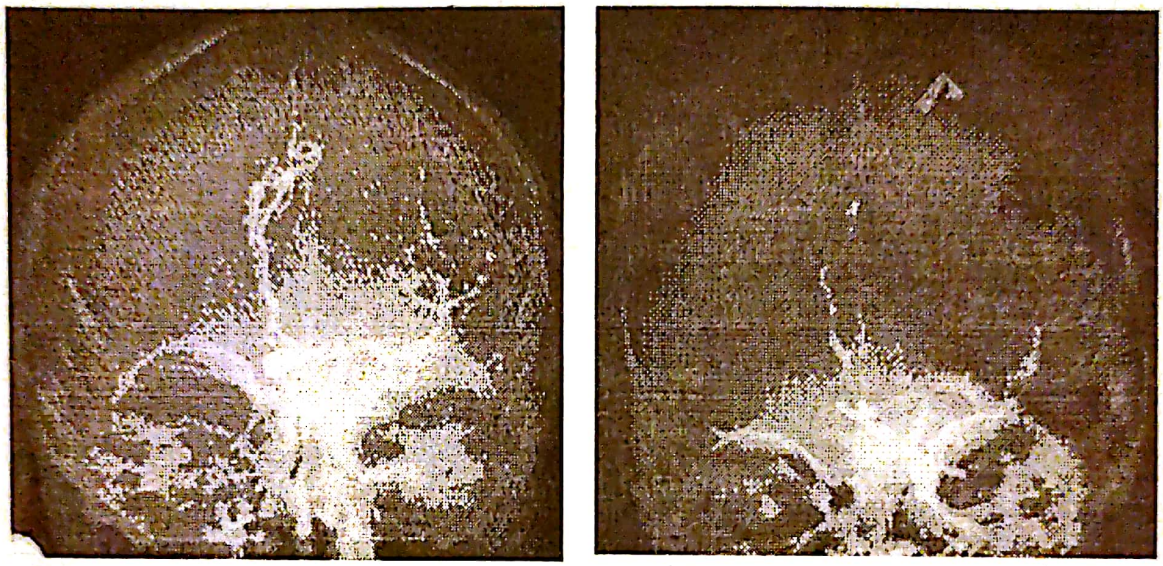


Fig.31 Anevrism de comunicantă anterioară:
înainte şi după clipare cu clip Heifetz-Weck drept.

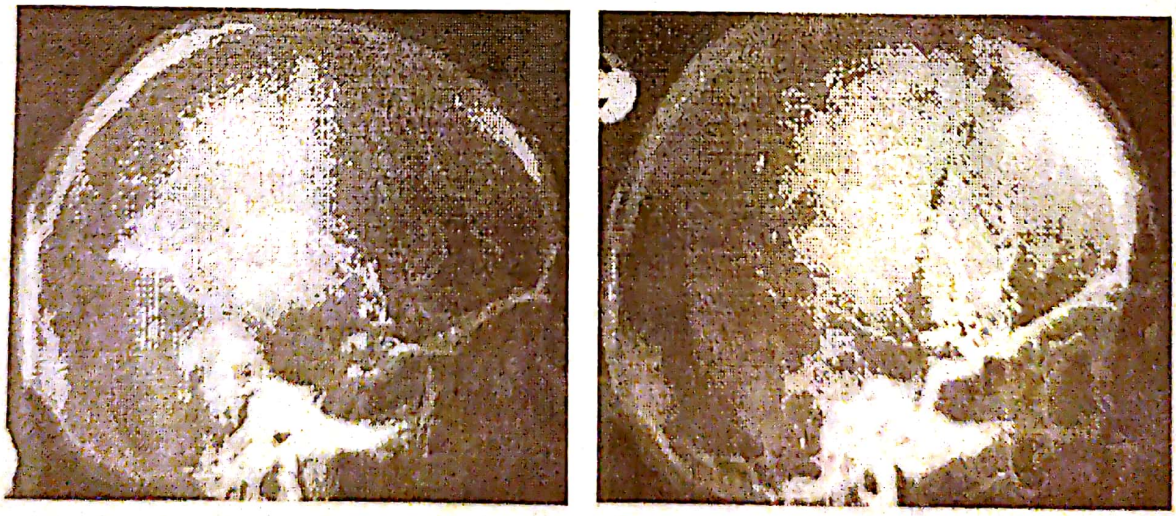


Fig. 32 Anevrism de comunicantă posterioară:
înainte şi după clipare cu clipuri Yaşargil şi Cushing.

Scanned with OKEN Scanner

Aceste cazuri au cuprins 7 anevrisme gigante (având un diametru mai mare de 20 mm): 4 anevrisme situate pe artera cerebrală medie, 2 pe artera comunicantă anterioară şi 1 pe artera oftalmică. Pentru cliparea acestor anevrisme gigant s-au folosit 3-7 clipuri pentru fiecare anevrism, în scopul colapsării sacului anevrismal şi ocluzionării coletului anevrismului. Alunecarea în timpul clipării a fost observată în 3 cazuri. Soluționarea acestei probleme s-a făcut prin aplicarea de clipuri multiple.

În trei cazuri au apărut complicații imediat după operație. Două cazuri au dezvoltat hemoragie subarahnoidiană, iar într-un caz s-a observat ischemia teritoriului arterei Hoibner, urmată de hemiplegia pacientului la 7 zile de la operație.

Fig.33. Hemoragia secundară clipării anevrismului situat pe artera oftalmică. Imaginea angiografică relevă ocluzia.

Alunecarea secundară clipării cu dezvoltarea unei ischemii pe acel teritoriu s-a presupus a fi cauzată de plasarea a două clipuri pe sacul anevrismului în scopul prezervării unui vas colateral. Pacientul în cauză a dezvoltat o hemiplegie în a 7-a zi de la operație. Examenul CT a relevat o zonă de infarct în teritoriul arterei Hoibner. Nu ne-am confruntat, în această serie, cu alte complicații legate de implantul propriu-zis.

Scanned with OKEN Scanner

În tratamentul chirurgical al anevrismelor s-au folosit clipurile disponibile în clinică la data respectivă. Nu în toate cazurile au fost disponibile clipurile cele mai performante. Complicațiile date de aceste clipuri: alunecarea, coroziunea și deplasarea în câmp magnetic au fost menționate în capitolele anterioare. Pentru evitarea alunecării s-a folosit, acolo unde s-a crezut că era necesar, un al doilea clip, un clip Cushing care să-l blocheze pe cel autostatic.

Fig.34. Cliparea multiplă cu clipuri Cushing, a unui anevrism gigant situat pe artera cerebrală medie.

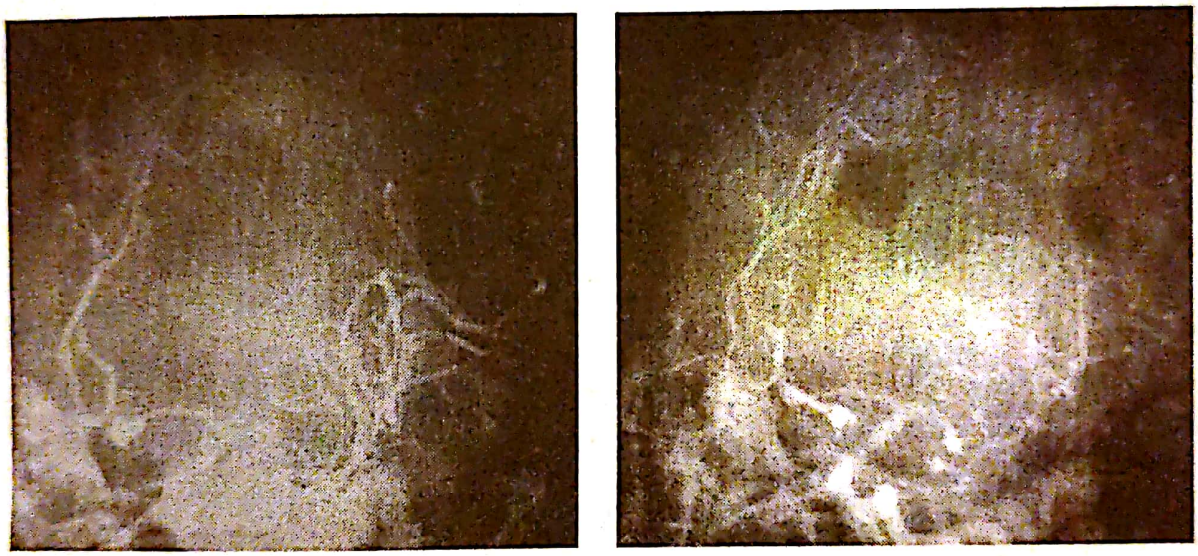
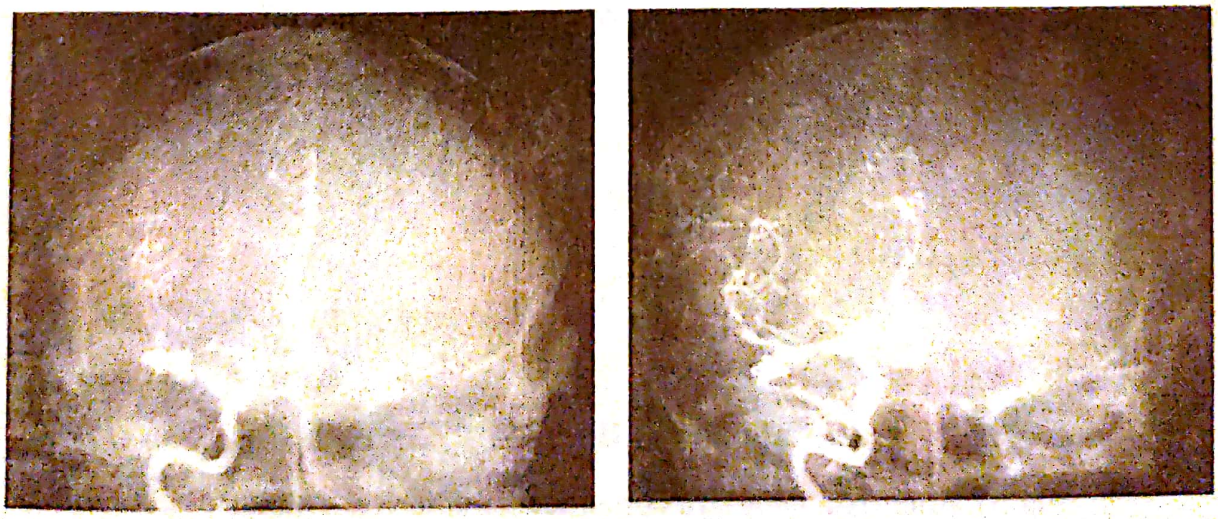


Fig.35. Anevrism situat pe artera comunicantă anterioară, clipat cu un clip Hefetz Weck drept



Scanned with OKEN Scanner

Alunecarea clipului în timpul clipării unui anevrism gigant este o situație nedorită care însă, se întâlnește destul de des. Este raportată și în literatură (2,), chiar recent raportându-se un caz de alunecare a unui clip de titan (1). Una dintre soluții o constituie cliparea multiplă (figura 34)

Alegerea clipului potrivit rămâne o problemă pentru respectarea permeabilității vaselor colaterale anevrismului (când acestea există), pentru anevrismele mari, gigante, polilobate, sesile, fuziforme, pentru rupturile la nivelul coletului anevrismal.

În figurile 36 - 46 sunt redate câteva dintre anevrismele operate în clinica noastră.

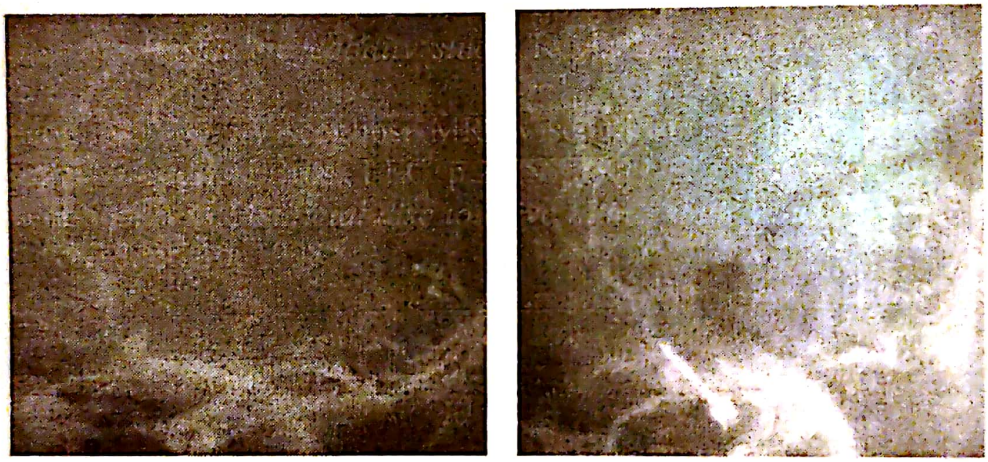


Fig.36. Anevrism de artera comunicanta anterioara – pedicul superior

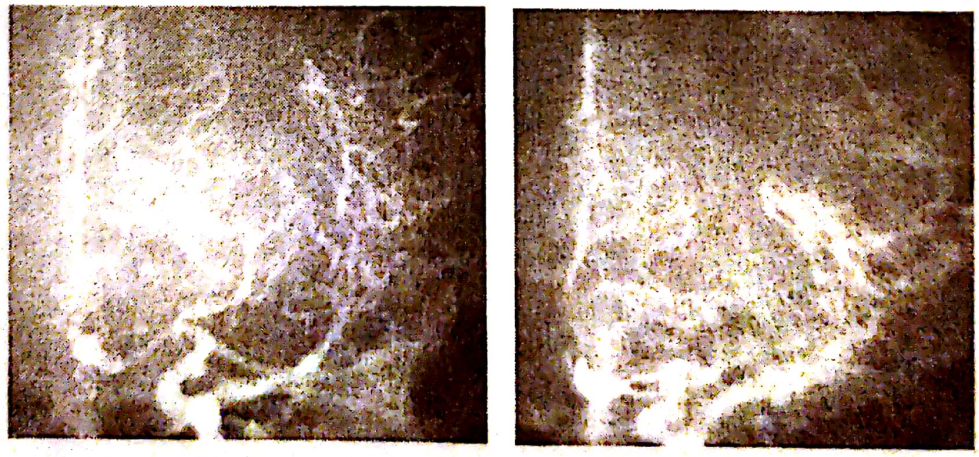


Fig.37 Anevrism de artera comunicanta anterioara clipat cu clip Sugita fenestrat in unghi drept

Scanned with OKEN Scanner

În seria de anevrisme operate de noi în perioada 1994-1999, cu clipurile mai sus menționate, în general, s-au preferat pentru cliparea anevrismelor de pe artera comunicantă posterioară clipuri angulate Heifetz-Weck, iar pentru cele de pe artera comunicantă anterioară clipuri drepte sau curbe.

Fig 38. Anevrism de arteră cerebrală medie, clipat cu 3 clipuri Heifetz-Weck, 1 clip Sugita și 3 Cushing

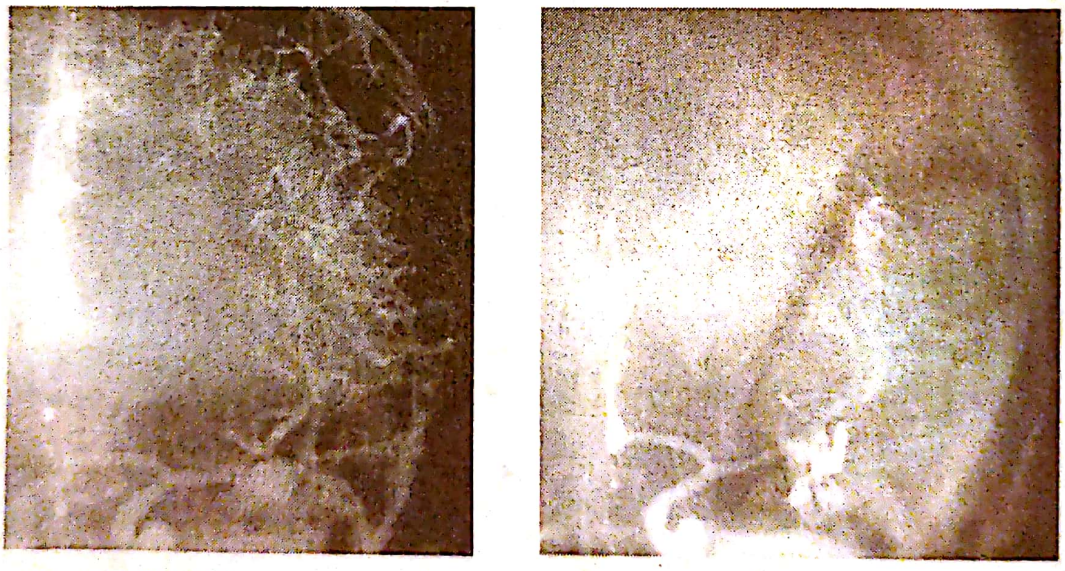


Fig.39 Anevrism de artera cerebrala medie stângă, clipat cu 2 clipuri McFaden și un clip Cushing.

Anevrismele mari și gigante au fost tratate prin clipare multiplă în majoritatea cazurilor. În ultimii ani (2000-2001) au fost folosite preponderent clipuri tip Yaşargil.

Scanned with OKEN Scanner

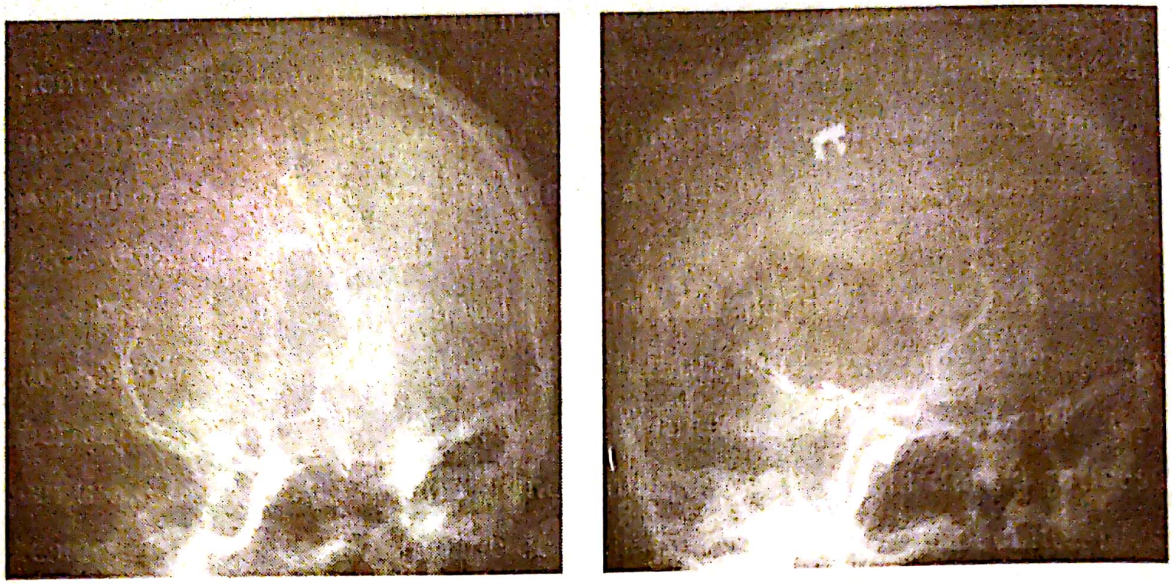


Fig.40 Anevrism de artera cerebrala medie clipat
cu doua clipuri angulate Heifetz Weck

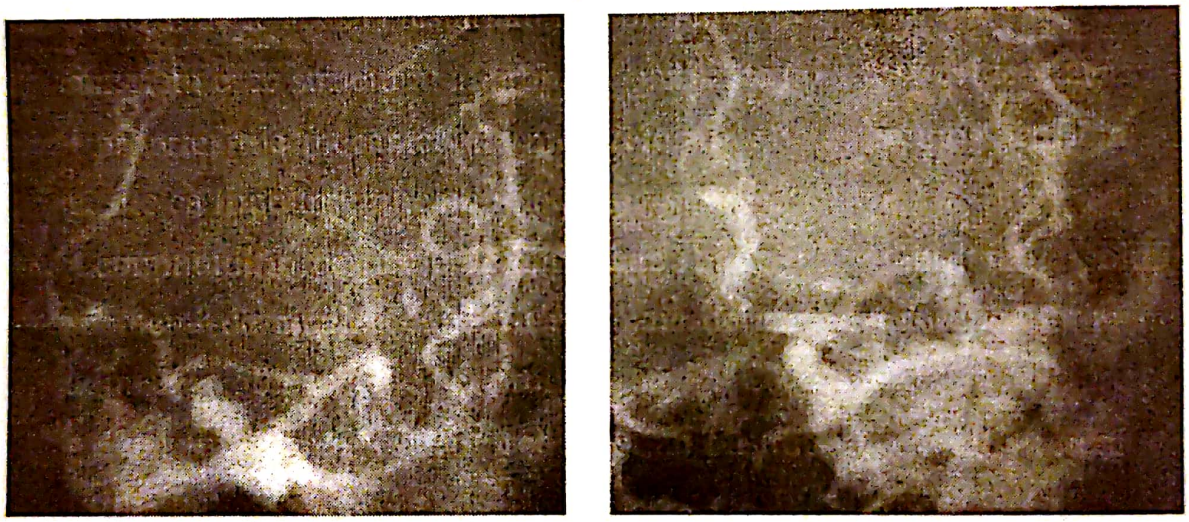


Fig.41 Anevrism de artera oftalmica clipat cu doua clipuri McFaden

Anevrismele mari și gigante au fost tratate prin clipare multiplă în majoritatea cazurilor. În ultimii ani (2000-2001) au fost folosite preponderent clipuri tip Yaşargil.

Scanned with OKEN Scanner

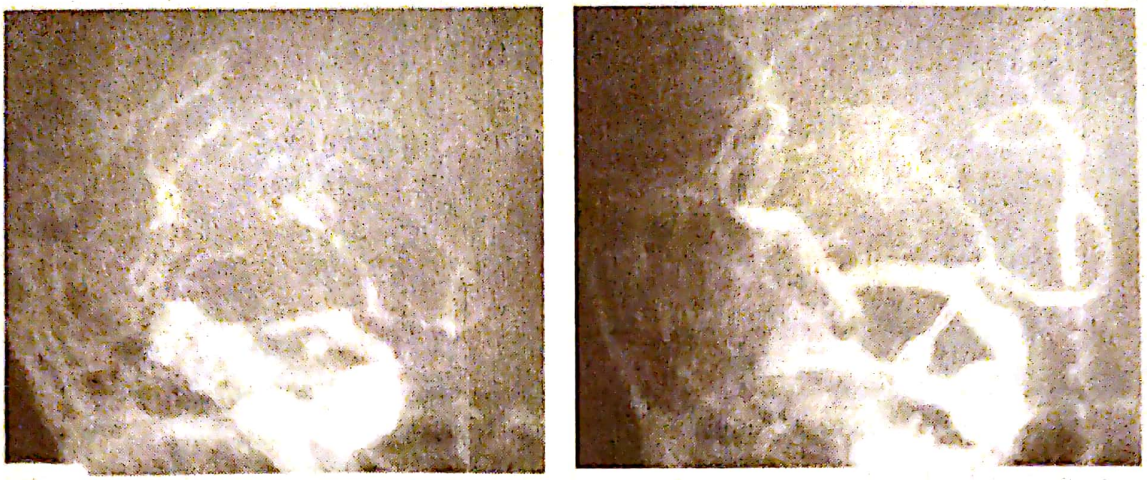


Fig.44 Anevrism de artera carotidă clipat cu un clip Heifetz Weck drept

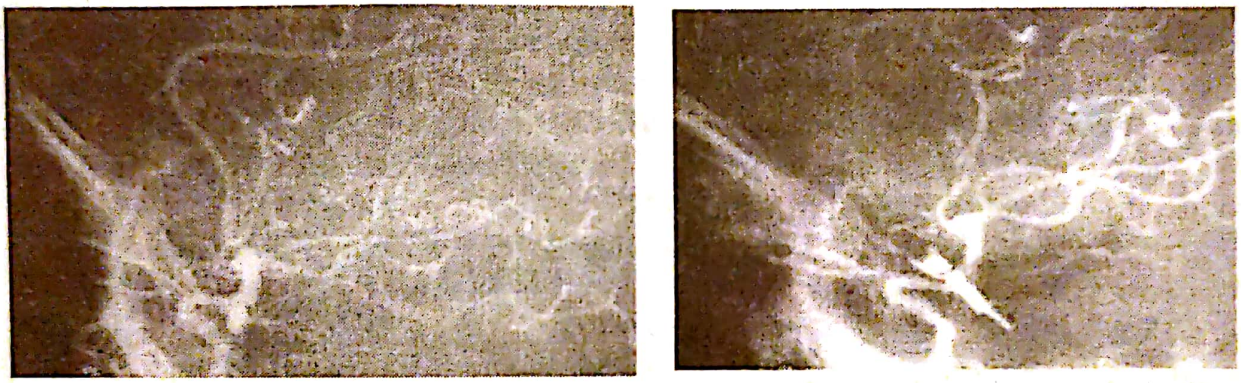


Fig.45 Anevrism de artera comunicanta posterioarã clipat cu un clipHeifetz Weck si cu un clip Cushing

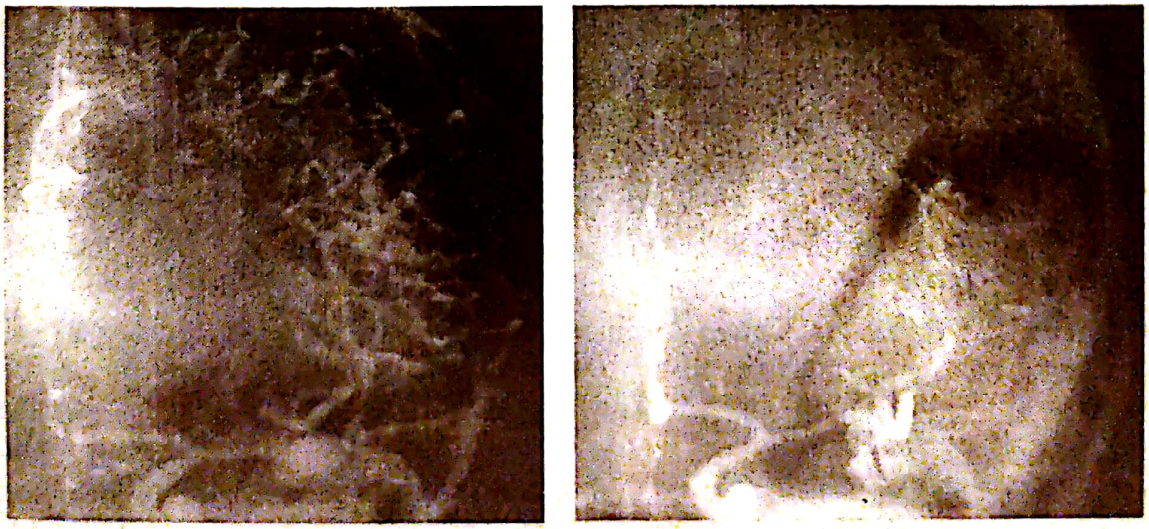


Fig.46. Anevrism de artera cerebral medie clipat cu doua clipuri Heifetz Weck si doua clipuri Cushing

Scanned with OKEN Scanner

Prezentarea statistică a acestei serii se va face într-o lucrare viitoare după trecerea perioadei de timp pentru controlul la distanță.

Bibliografie

1. Alexander E, M.D., Adams J.E., M.D. and Davis H.C. M.D.: *Complication In The Use Of Temporary Intracranial Arterial Clip*; J Neurosurgery 20:810-811, 1963
2. Arseni C., Dănăilă L, Arseni Aurelia: *Bolile vasculare ale creierului şi măduvei spinării*, Editura Academiei RSR, Bucureşti, 1985
3. Collians J.C and Manuelidis E.: *Histopathological changes produsedby implanted electrodes in cat brains. Comparation with histopathological changes in human and experimental puncture wounds*; J Neurosurg.: 14: 302-328, 1957
4. Cuatico W: *A Suggested Design for Tips of Aneurysmal Clips: A New Concept*; Neurosurgery, vol. 36, no. 3, 615-616, 1995
5. Dandy W.E: *Intracranial aneurysm of internal carotid artery cured by operation*; Ann Surg 107:654, 1938
6. Del Maestro R.F., M.D., PhD: *Origin of the Drake fenestrated aneurysm clip*; J Neurosurg.: 92: 1056-1064, 2000
7. DeLong W.B, M.D. and Ray R.L: *Mettalurgical analysis of aneurysms and microvascular clips*; J Neurosurg.: 48: 614-621, 1978
8. DeLong W.B: *A simple method of measuring aneurysm clip tension*; J Neurosurg.: 47: 788-789, 1977
9. Deon F.Louw, Wilson T. Asfora, M.D. and Garnette R. Sutherland, M.D: *A brief history of aneurysm clips*; Neurosurgery Focus 11:article 4, 2001
10. Dott N.M: *Intracranial aneurysms: cerebral artheriography: surgical treatement;* Edinburgh Med J 40: 219, 1933
11. Dotton J and Yates P.O: *An experimental study of the effects of a plastic adhesive, Methyl 2-Cyanoacrilate Monomer in various tissues*; J. Neursurgery: 24:876- 882, 1966
12. Dotton J: *Acrylic investment of inracranial aneuryisms*; Br. Med. J.:2:597-602, 1959
13. Drake C.G, M.D, Allcock J.M: *Postoperative angiography and the "slipped" clip*; J Neurosurg.: 39: 683-689, 1973
14. Dujovny M., Alp M.S, Slavin K.V., Dulovni N., Misra M., Dobben G., Jackson L.D.; *Magnetical Characteristics of Yaşargil Aneurysm Clips*; Surg Neurol: 47: 547-550, 1997

Scanned with OKEN Scanner

15.Dujovny M., Gundamraj N.R., Misra M., Alp M.S.: *Aneurysm clip; Crit Rev Neurosurg*, 7: 169-175, 1997
16.Dymond A.M, Kaechele L.E, Jurist J.M, Crandall I.:*Brain tissue reaction to some chronically implanted metals*; J Neurosurg.:33: 574-579, 1970
17.Goutelle A., Desgeorges M. Et Pierluca P.: *Le clips en Neuro-chirurgie; Neuro-chirurgie*, tome 19, nr. 3, pp 234-243, Paris, 1973
18.Greenberg S. Mark, M.D: *Handbook of Neurosurgery*, vol. I, II, Lakeland,FL, 2001
19.Heifetz M.D.: *A New Intracranial Aneurysm Clip*; J Neurosurg.: 30: 753, 1969
20.Ho J.C, Wu C.Y, Carron M.J, Maughan K.P, Schmidt F.J: *Titanium Cerebral Aneurysm Clip: Characterization and Performance in Magnetic Resonance Imaging and Computed Tomography*; JTE, vol. 24, nr.2, pp 85-90, 1996
21.Kanal E., Shellock F.G, Lewin J.S: *Aneurysm clip testing for feromagnetic properties: clip variability issues*; Radiology: 200: 576-578, 2000
22.Kluczick R.P, Carrier D.A, Pyka R., Haid R.W: *Placement of a ferromagnetic intracerebral aneurysm clip in a magnetic field with a fatal outcome*; Radiolory: 187: 855-856, 1993
23.Koyama T., M.D., Hongo K., M.D., Tanaka Y., Kobayashi S.: *Simulation of the surgical manipulation involved in clipping a basilar artery aneurysm: cocepts of virtual clipping*; J Neurosurg.: 93: 55-360, 2000
24.Koyama T., Okudera H., Kobayashi S.: *Computer-assisted Gemetric Design of Cerebral Aneurysms for Surgical Simulation*; Neurosurgery, vol 36, nr. 3, pp 541-547, 1995
25.Lawton M.T., Ho J.C., Bichard W.D., Coons S.W., Zabramski J.M., Spetyler R.F.: *Titanium Aneurysm Clips*; Neurosurgery: vol. 38, no. 6: 1158-1175, 1996
26.McFadden J.T, F.A.C.S.: *Tissue reactions to standard neurosurgical mettalic imlants*; J Neurosurg.: 36: 598-603, 1972
27.McFadden J.T, M.D.: *Modification of Crossed-Action Intracranial Clips*; J Neurosurg.: 32:116-118, 1970
28.Mcfadden T.,M.D., F.A.C.S.: *Mettalurgical Principles in Neurosurgery*; J Neurosurg. :31:373-385, 1969
29.Myfield H.F, M.D. and Kees G: *A brief history of the development of the Mayfield clip*; J Neurosurgery: 35: 97-100, 1971
30.Nievas C.M.N, Hollerhange H.G: *Risk of intraoperative clip slippage a new experience with titanium clips;* J Neurosurg.: 92: 478-480, 2000
31.Osawa M, Obinata c, Kobayashi S, Tanaka Y: *Newly Designed Bayonet Clips for Coplicated Aneurysms: Tehnical Note*; Neurosurgery, vol36, no2, pp425-427, 1995
32.Perneczky A, Fries G: *Use of a new aneurysm clip with an inverted-spring mechanism to facilitate visual control during clip application*; J Neurosurg.: 82: 898-899, 1995
33.Poeată I., *Aneurysm Clips as Implants in Vascular Neurosurgery Literature Review and Personal Remarks*;Neurochirurgia Iaşi: vol.2, nr.2, 2000

Scanned with OKEN Scanner

IV

Aliaje cu memoria formei

Gheorghe POP

CUPRINS

1. Introducere 125
1.1. Efectul de memoria formei 125
1.2. Aliaje superelastice 126
1.3. Efectul de amortizare a vibraţiilor mecanice şi ultrasonice 127
1.4. Efectul de generare a unor tensiuni interne şi lucru mecanic 127

2.Natura şi mecanismul transformării martensitice în aliajele metalice 127

3. Transformări martensitice reversibile 130

4. Martensite termoelastice 133

5. Morfologia martensitei 133
5.1. Martensita produsă pe cale termică 134
5.2. Martensita formată sub influenţa tensiunilor exterioare 135

6. Cerinţe cristalografice impuse aliajelor cu memoria formei 136

7. Efectul de memoria a formei şi efecte complementare 138
7.1. Efectul simplu de memoria formei 139

Scanned with OKEN Scanner

7.2.Efectul dublu de memoria formei 140
7.3.Efectul de producere a tensiunilor interne 141
7.4.Efectul de producere a lucrului mecanic 142
7.5 Efectul de superelasticitate 142

8. Aplicaţii biomedicale ale aliajelor cu memoria formei 144
8.1.Aplicaţii în ortopedie 145
8.2.Aplicaţii în domeniul chirurgiei vasculare şi al inimii artificiale 148
8.3.Aplicaţii în domeniul ortodonţiei 151
8.4.Aplicaţii în domeniul instrumentarului medical 153
8.5.Concluzii 154

Bibliografie 155

Scanned with OKEN Scanner

Aliaje cu memoria formei

Gheorghe POP

1.Noțiuni generale

În ultimii ani, aliajele cu memoria formei au atras atenția specialiștilor în știința materialelor datorită unor proprietăți remarcabile ale acestor materiale, care deschid noi domenii de utilizare, atât în sfera medicală, cât și în alte aplicații tehnice de vârf.

Cele mai importante fenomene manifestate de aceste aliaje sunt: efectul de memoria formei, de generare de tensiuni mecanice și lucru mecanic, superelasticitatea și înalta capacitate de atenuare a vibrațiilor.

1.1. Efectul de memoria formei

Efectul de memoria formei este un fenomen prin care, după o deformare plastică la temperatura ambiantă, un aliaj metalic încălzit își amintește de forma pe care a avut-o la o temperatură ridicată, la care a fost prelucrat anterior. Ca exemplu, se poate menționa o sârmă spiralată realizată la temperatura de 700^{o}C și apoi răcită. Dacă această sârmă este despiralată la temperatura ambiantă, printr-o nouă încălzire, ea recapătă forma de spirală pe care a avut-o la temperatura înaltă. Această comportare surprinzătoare este în contrast cu ireversibilitatea binecunoscută a deformării plastice, bazată pe deplasarea dislocațiilor.

Explicația fenomenului de memoria formei se bazează pe două caracteristici esențiale ale constituentului de călire - MARTENSITA- din aceste aliaje: martensita este termoelastică datorită coerenței perfecte și mobile a interfețelor martensită-austenită (austenita este constituentul stabil

Scanned with OKEN Scanner

la temperaturi ridicate din care se formează martensita), iar substructura martensitei este caracterizată de prezența maclelor interne şi nu a dislocațiilor; acestea din urmă conduc la procese de alunecare ireversibile.

În aceste aliaje (cu structura ordonată) distribuția atomilor de specii diferite este asigurată când deformarea plastică se realizează prin procese reversibile de demaclare-maclare şi fenomenul nu se manifestă când deformarea plastică are loc prin procese ireversibile de alunecare a dislocațiilor. De asemenea, se menționează faptul că fenomenul de memoria formei se manifestă în aliajele cu deformație redusă a rețelei cristaline, la transformarea austenită-martensită, deformație care poate fi realizată printr-o substructură martensitică bazată pe macle interne şi nu pe dislocații.

1.2. Aliaje superelastice

Aliajele superelastice se caracterizează prin prezența în structura lor a martensitei cu caracter termoelastic. Aceste proprietăți se manifestă într-un număr limitat de aliaje neferoase ca: Ag-Zn, Cu-Al-Ni, Cu-Zn, In-Tl şi Ni-Ti. Condițiile necesare pentru apariția şi manifestarea acestui fenomen sunt:

- valoarea mică a deformării rețelei cristaline la transformarea martensitică;
- distribuția ordonată a atomilor în rețeaua cristalină a martensitei;
- substructura martensitei este caracterizată prin prezența maclelor interne care au posibilitatea demaclării uşoare.

La aliajele termoelastice, creşterea cristalelor martensitice este oprită când energia liberă $\Delta G_{\gamma\text{-}M}$ ce acționează ca forță motrice a transformării este contrabalansată de energia de deformare acumulată în austenită. Deoarece deformația cristalelor de martensită este mică, la acest echilibru se ajunge când deformația austenitei este încă elastică, motiv pentru care martensita rezultată se numeşte termoelastică.

Scanned with OKEN Scanner

1.3. Efectul de amortizare a vibraţiilor mecanice şi ultrasonice

Efectul de amortizare a vibraţiilor mecanice şi ultrasonice, caracteristic aliajelor cu memoria formei, se datoreşte uşurinţei de deplasare a interfeţelor interne în aceste aliaje la transformarea martensitică directă şi inversă - acest efect se manifestă în intervalul temperaturilor de transformare austenită-martensită.

1.4. Efectul de generare a unor tensiuni interne şi lucru mecanic

Efectul de generare a unor tensiuni interne şi lucru mecanic, la deformarea aliajelor cu memoria formei, se manifestă la încălzire dacă revenirea la forma iniţială este blocată. Tensiunea creată în aliaj pe această cale poate atinge valoarea 800 MPa.

2. Natura şi mecanismul transformării martensitice în aliajele metalice

Fenomenul de memoria formei se manifestă în unele aliaje neferoase cu transformare martensitică reversibilă în care martensita are caracter termoelastic, spre exemplu aliajele: Cu-Al-Ni, Au-Cd, Ti-Ni sau compuşii intermetalici Cu_3Al, Ni-Al, etc.

Fenomenul de memoria formei se manifestă spectaculos în aliajul echiatomic Ni-Ti numit NITINOL, a cărui transformare martensitică reversibilă se bazează pe două caracteristici esenţiale:

- martensita este termoelastică;
- substructura martensitei este caracterizată de prezenţa maclelor interne în structura cristalină.

Transformarea martensitică se produce în metale şi aliaje în stare solidă, fără procese de difuzie, ea are loc la temperaturi scăzute unde viteza de difuzie şi autodifuzie sunt nule. Germenii transformării martensitice pot fi formaţi prin trei procese:

Scanned with OKEN Scanner

- germinarea clasică omogenă sau eterogenă prin fluctuații termice;
- fixarea prin răcire bruscă a embrionilor formați la temperatura înaltă;
- pe cale atermică, prin gruparea unor defecte de structură, obținându-se centre de deformare cu structura apropiată de a martensitei.

În toate cazurile nucleele sunt separate de matrice prin interfețe coerente sau necoerente. O interfață de separare necoerentă reprezintă limita de discontinuitate dintre două regiuni cristaline distincte din punct de vedere al orientării cristalografice (figura 1.a). O interfață de separare coerentă asigură o îmbinare perfectă a planelor cristalografice ale celor două faze (rețele) vecine, dar în zona interfazică apare o îndoire sau curbare a planelor cristalografice (figura 1.b), ceea ce induce în aceste zone o energie de deformare elastică importantă.

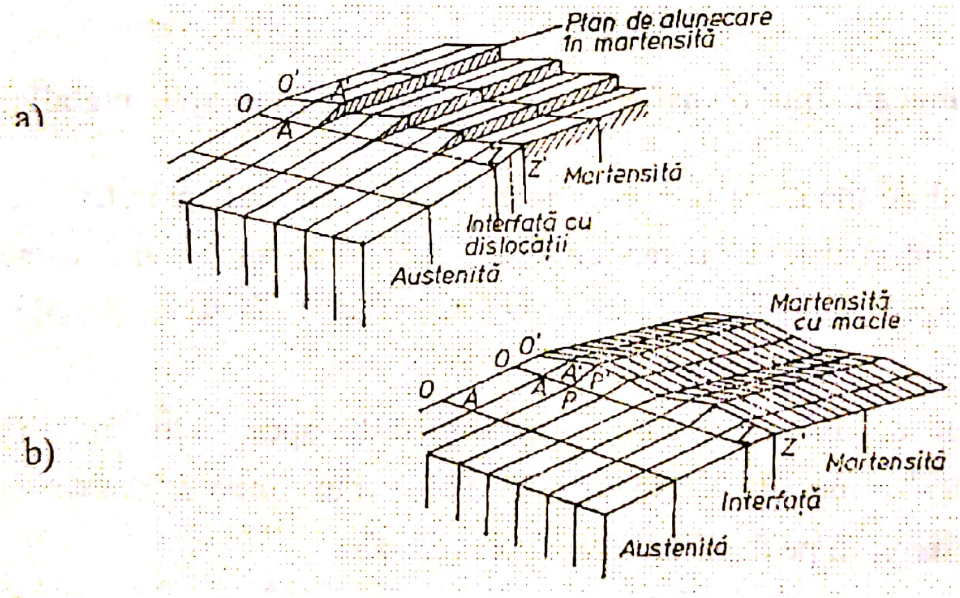
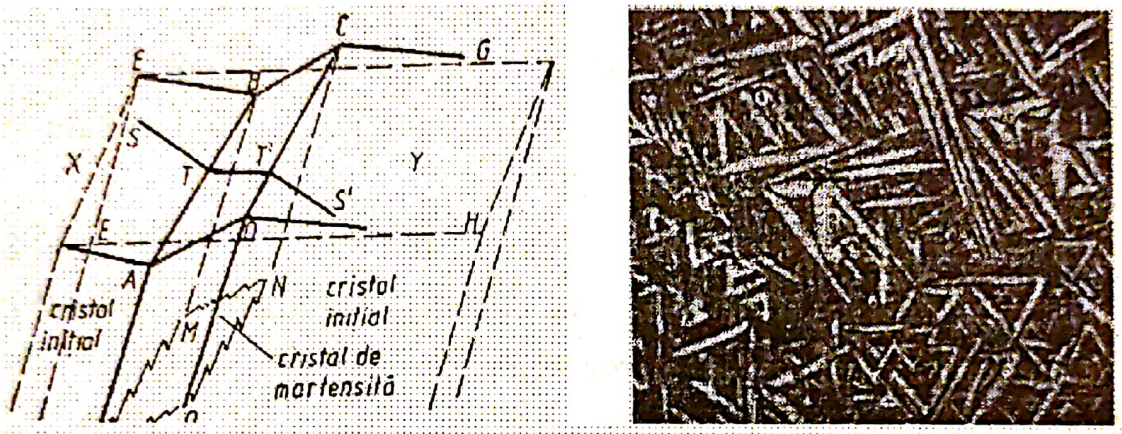


Fig. 1. Interfețe de separare austenită-martensită
a-necoerente – prin plane de alunecare; b-coerente – prin macle.

Cristalele de martensită au formă de plăci care străbat cristalul fazei inițiale de la o limită la alta (figura 2.a); de regulă într-un cristal de fază inițială se formează mai multe plăci de martensită, care se întâlnesc sub

diferite unghiuri pe suprafața cristalului formând un aspect acicular caracteristic (figura 2.b).

Modul în care faza veche își modifică structura cristalină, pentru a se transformă în martensită, poate fi înțeles luând ca exemplu formarea martensitei în oțeluri. În figura 3 se indică modul în care celula elementară cubică cu fețe centrate de austenită (CFC) se transformă în celula elementară tetragonală cu volum centrat (TVC) de martensită.



a b

Fig. 2. Modificarea formei si structurii la creșterea unui cristal de martensită.
a-modificarea formei cristalului initial de austenită;
b-aspectul acicular al cristalelor de martensită

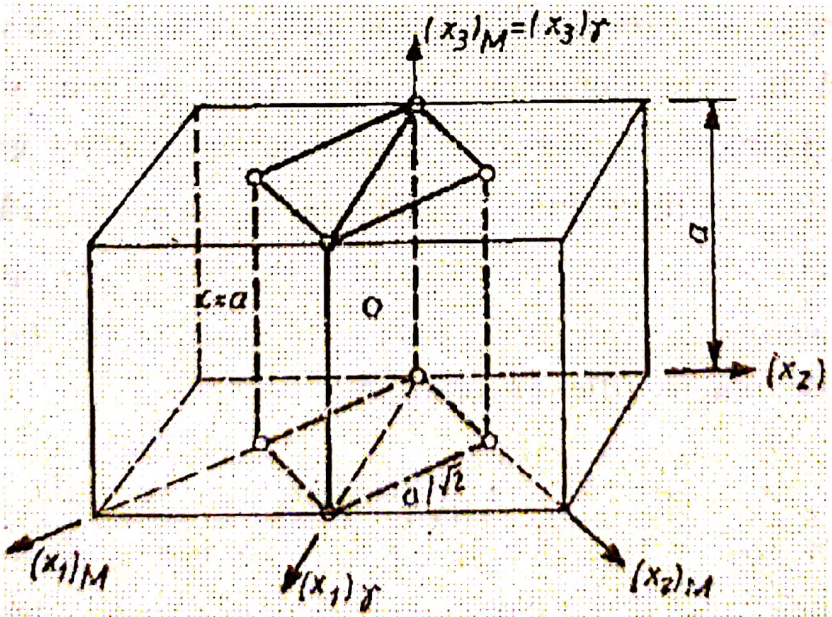


Fig. 3. Mecanismul cristalografic al transformării martensitice

Mecanismul transformării martensitice pretinde ca o anumită unitate structurală din rețeaua fazei vechi să devină celula elementară a rețelei de martensită. Acest lucru este posibil numai dacă între cele două fețe cristaline există o anumită corespondență (numită în cazul oțelurilor corespondență Bain).

Mecanismul transformării martensitice, bazat pe distorsiunea rețelei cristaline a fazei vechi aflată în corespundență cu rețeaua martensitei, este în corelație cu aspectele observate experimental, ca de exemplu:

- mecanismul modifică numai structura, nu şi compoziția chimică, martensita având aceeaşi compoziție chimică cu a fazei din care provine;
- mecanismul implicat în transformare este de fapt o deformare a fazei vechi, el corespunde şi celorlalte caractere esențiale ale transformării martensitice ca absența proceselor de difuzie şi viteza mare de realizare a transformării.

Dacă în cazul oțelurilor transformarea martensitică are un caracter ireversibil, adică la încălzire ea se transformă nu în austenita din care a provenit, ci în fazele de echilibru – ferită si cementită. Spre deosebire de oțeluri, la majoritatea metalelor şi aliajelor neferoase transformarea martensitică are caracter reversibil, adică la încălzire martensita se transformă în faza inițială din care a provenit la răcire. Acest fenomen se produce la acele metale polimorfe sau sisteme de aliaje la care nu există o faza intermediară de echilibru între martensită şi faza inițială stabilă la temperatura înaltă.

3. Transformări martensitice reversibile

În sistemele de aliaje neferoase cu transformare reversibilă, martensita se transformă din nou în faza inițială din care s-a format (faza care în mod arbitrar este numită austenită, ea nefiind prezentă în aliajele neferoase).

Scanned with OKEN Scanner

Caracterul reversibil al martensitei este pus în evidenţă în figura 4 prin curba de variaţie cu temperatura a cantităţii de martensită transformată.

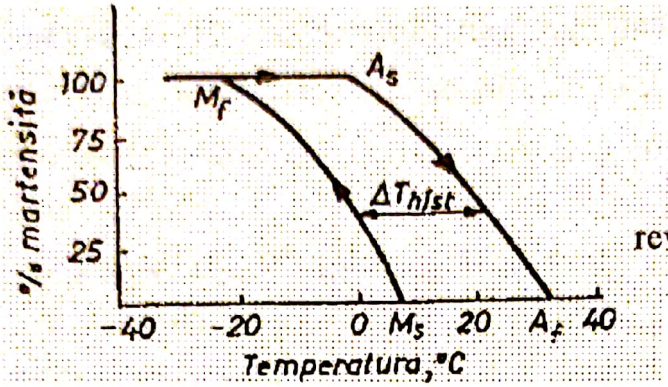


Fig. 4. Bucla de histerezis la transformarea martensitică reversibilă pentru aliajul Cu-Al-Ni

Se constată că şi transformarea inversă martensită-austenită se realizează prin acelaşi mecanism de creştere rapidă, ca şi transformarea directă, ea producându-se într-un interval de temperatură cuprins între domeniile A_s-A_f (începutul şi sfârşitul transformării austenitice) si M_s-M_f (începutul şi sfârşitul transformării martensitice). Din lăţimea buclei de histerezis ΔT_{his} se poate deduce valoarea energiei libere ($\Delta G_{\gamma\text{-}M}$), necesare ca forţă motrice pentru transformarea martensitică:

$$\Delta G_{\gamma\text{-}M}=\Delta S_f\, \Delta T_{his}/2$$

în care:

ΔG – energia liberă a transformării structurale din faza iniţială γ în faza martensitică M.

ΔS_f - variaţia entropiei la transformarea martensitică;

ΔT_{his} - intervalul de temperaturi între transformarea martensitică directă şi inversă;

Cel mai reprezentativ aliaj cu aplicaţii biomedicale este sistemul echiatomic Ni-Ti, prezentat în diagrama de echilibru termic din figura 5.

Scanned with OKEN Scanner

În acest sistem aliajul de compoziție echiatomică (50% Ni si 50%Ti) formează compusul intermetalic TiNi care, la răcire, suferă o transformare martensitică prin schimbarea rețelei cristaline CFC în rețea rombică. Temperatura M_s de început de transformare martensitică se situează aproximativ la temperatura camerei în cazul răcirii lente şi la minus 50^0C pentru răcirea rapidă (călire în apă).

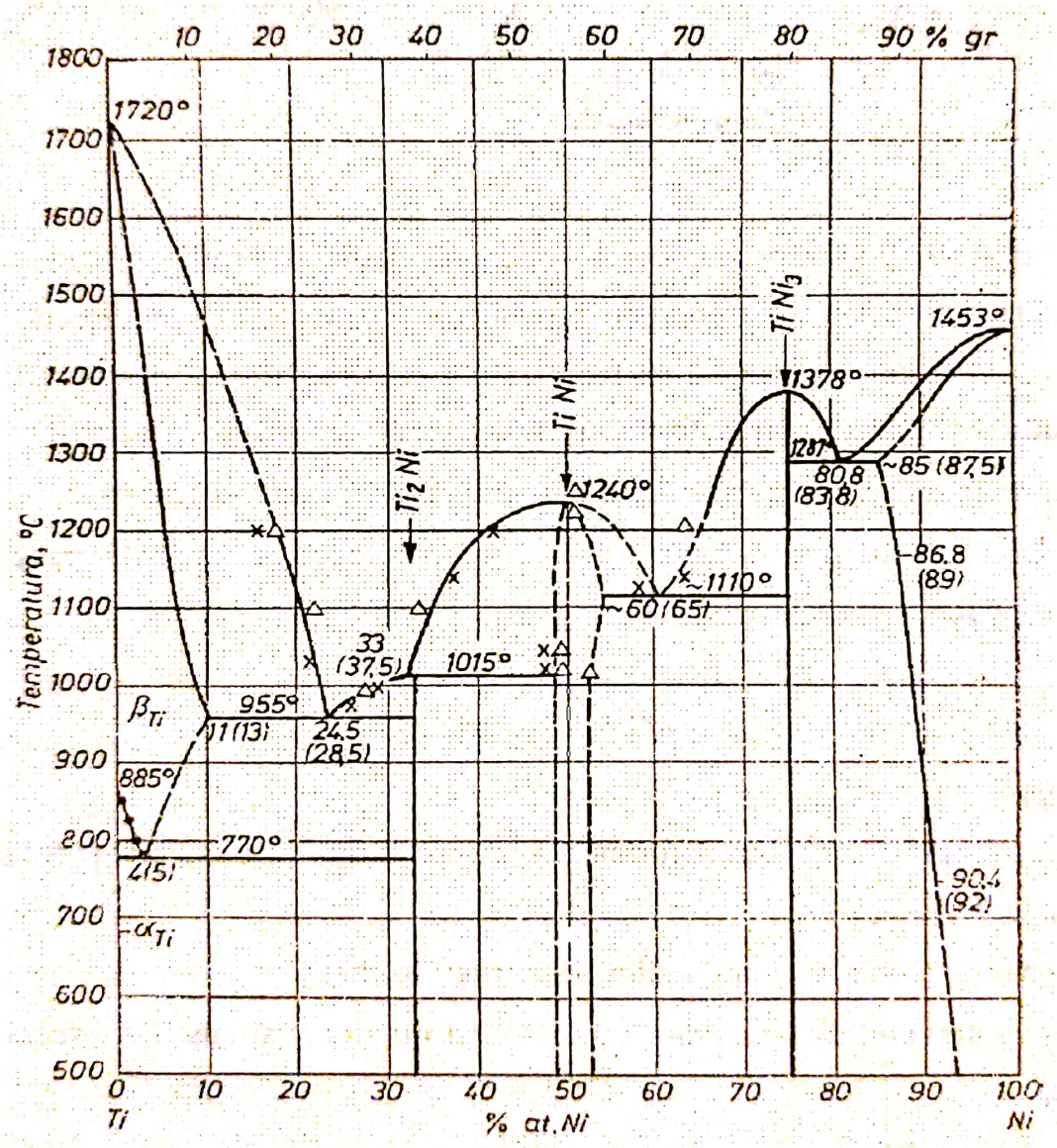


Fig. 5. Diagrama de echilibru fazic a sistemului Ti-Ni

Scanned with OKEN Scanner

La încălzirea aliajului echiatomic Ti-Ni are loc transformarea martensitică inversă, când dispar treptat plachetele de martensită. Din valorile temperaturilor observate experimental a rezultat că histerezisul transformării martensitice în acest aliaj - ΔT_{his} - are valoarea de 24^0C.

4. Martensite termoelastice

Într-un număr limitat de aliaje neferoase ca: Ag-Zn, Cu-Al-Ni, In-Tl Ni-Ti, martensita are caracter termoelastic. Condiţiile necesare pentru formarea acestui tip de martensită sunt:

- valoarea mică a deformării reţelei cristaline la transformarea martensitică directă (0,02-0,05);
- distribuţia ordonată a atomilor de specii diferite în reţeaua cristalină a martensitei, care nu poate fi distrusă prin procese de alunecare;
- valoare redusă a histerezisului ΔT_{his}.

În cazul acestor martensite, aşa cum s-a arătat mai sus, deformaţia reţelei cristaline este redusă, echilibrul transformării se stabileşte când deformaţia austenitei este încă elastică, motiv pentru care acestea sunt numite martensite termoelastice.

Creşterea cristalelor de martensită termoelastică se face în mod treptat (sacadat), deoarece la răcirea aliajului la temperaturi joase are loc nu numai germinarea de noi plachete ci şi dezvoltarea plachetelor care şi-au încetat creşterea la o temperatura mai înaltă şi care îşi reiau creşterea când mărirea grăuntelui subrăcit a furnizat o forţă motrice $\Delta G_{\gamma\text{-}M}$ mai mare; la aceasta temperatura joasă creşterea încetează din nou.

5. Morfologia martensitei

Transformările martensitice pot fi realizate prin schimbarea temperaturii (răcire) şi prin solicitări, tensiuni exterioare. Acest aspect se explică prin

Scanned with OKEN Scanner

următoarele fenomene:

- entalpia liberă a austenitei şi a martensiei precum şi echilibrul lor depind nu numai de schimbarea temperaturii şi compoziţiei ci şi de aplicarea unor tensiuni exterioare
- procesele de nucleere şi creştere a plachetelor de martensită sunt asociate cu eforturi de forfecare sub acţiunea tensiunilor din reţeaua cristalină.

Aceste efecte termodinamice şi cinetice sunt dependente de direcţia de acţiune a solicitării faţă de orientarea cristalelor.

5.1. Martensita produsă pe cale termică

Acest tip de martensită este caracterizat prin dependenţa sa de scăderea temperaturii aliajului. Procesul de formare a cristalelor de martensită dispare dacă scăderea temperaturii se opreşte sau dacă temperatura creşte. În aceste transformări esenţial este echilibrul dintre energia chimică a tranformării şi rezistenţa mecanică a cărei componentă este acumulată sub forma de energie elastică. Transformarea însoţită de variaţia temperaturii aliajului este numită transformare termică a martensitei şi se caracterizează prin domeniul temperaturii de tranziţie a transformării martensitice şi austenitice, aşa cum se prezintă în diagrama din fig. 6, domeniu caracterizat de punctele M_s, M_f, A_s, A_f.

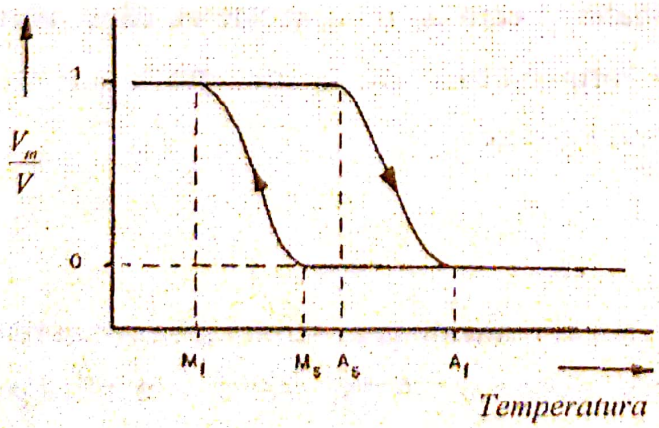


Fig. 6 Transformarea termoelastică a martensitei în funcţie de temperatură.

Scanned with OKEN Scanner

A_s - începutul transformării austenitice la încălzire;
A_f - sfârsitul transformării austenitice la încălzire;
M_s - începutul transformării martensitice la răcire;
M_f - sfârsitul transformării martensitice la răcire;
Vm/V - fracția de volum a martensitei produse.

Aşa cum se constată în graficul din figura 6, viteza de creştere a fracției de martensită pare a fi determinată de variația temperaturii. Totuşi, transformarea martensitică se poate produce şi spontan, sub influența excesului de energie internă al rețelei cristaline. Produsul se numeşte martensită termoelastică, care este caracterizat, de asemenea, prin cele patru temperaturi de tranzitie. Martensita termoelastică, ca şi martensita indusă pe cale termică, poate fi parțial sau total acomodată la faza inițială. Diferitele forme de martensită se pot prezenta la examen macroscopic în şiruri zig-zag (martensita termică), în plachete (martensita masivă), în grupuri sau în benzi. Datorită timpului insuficient de transformare a fazei inițiale, care să permită relaxarea rețelei cristaline, rezultă tensiuni locale şi densități mari de dislocații care pot fi constatate în rețeaua martensitei. Aceste dislocații sunt imobile şi se numesc dislocații de acomodare, ele fiind necesare pentru formarea microrețelei deformate.

În absența tensiunilor exterioare, martensita formată pe cale termică este caracterizată de prezența diverselor plăci nedeformate. Dacă însă se aplică o tensiune exterioară, martensita indusă termoelastic va creşte în grupuri de plachete, având formă macroscopică deformată.

5.2. Martensita formată sub influența tensiunilor exterioare

Această martensită se formează continuu la creşterea tensiunii exteriore aplicate şi devine reversibilă când valoarea tensiunii scade, iar temperatura rămâne constantă, aşa cum se constată în figura 7.

Scanned with OKEN Scanner

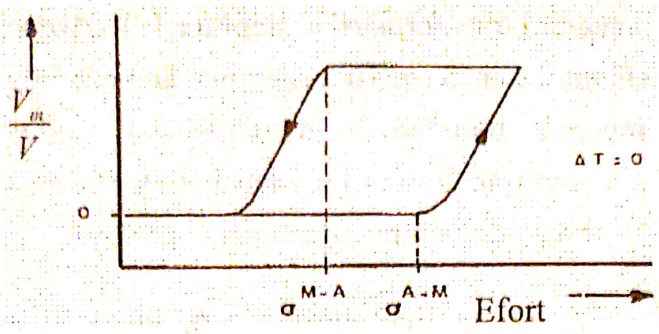


Fig. 7. Transformarea martensitica termoelastică
sub acțiunea unei tensiuni exterioare
σ_{A-M} – tensiunea la care începe transformarea austenitei in martensită;
σ_{M-A} – tensiunea la care începe transformarea inversă a martensitei în austenită.

Aceste martensite vor creşte preferențial sub formă de plachete şi vor fi pronunțat texturate în condiții de aplicare a unei tensiuni. Influența stresului exterior asupra transformării martensitice, la temperatura constantă, se poate exprima prin temperatura M_s definită ca temperatura la care transformarea martensitei poate avea loc sub o tensiune exterioară aplicată.

Temperatura maximă $M_s = (M_s)_{max}$ depinde de condițiile de aplicare a stresului, de felul orientării structurii cristaline, de limita de curgere a austenitei şi de alți factori. Dacă deformarea sub sarcină se produce la răcirea aliajului, la temperatura T_d şi dacă $A_f < T_d < M_d$, atunci formarea martensiei din austenită nu mai are loc la încetarea aplicării tensiunii. Totuşi, în condițiile în care $M_s < T_d < A_f$, martensita formată sub sarcină rămâne termodinamic stabilă şi după eliminarea tensiunii aplicate. Aceasta înseamnă că în condiții de stres, temperatura de transformare martensitică M_s este mai mare decât în lipsă stresului.

6. Cerințe cristalografice impuse aliajelor cu memoria formei

Inițial, efectul de memoria formei a fost atribuit fenomenului de schimbare a structurii metalice sub efort. În 1996, efectul de memorie a

formei în aliajul Ti-Ni a fost pentru prima dată prezentat ca o transformare martensitică termoelastică, de către Zijderveld şi colaboratorii săi. Dar şi această transformare termoelastică este limitată în definirea efectului de memorie a formei deoarece în aliajele Ti-Ni s-a observat că numai 50-80% din transformarea martensitică este instantanee. Acest aspect arată că viteza de creştere a plachetelor de martensită nu este guvernată numai de variaţia temperaturii şi de aceea nu poate defini transformarea termoelastică, cu toate că aliajul prezintă un remarcabil efect de memoria formei.

O definiţie generală care poate fi dată este aceea că orice material care prezintă o transformare martensitică directă şi inversă, produsă sub efect termic sau sub efort, prezintă un potenţial fenomen de memoria a formei. Pentru fiecare material în parte este necesar să se determine condiţiile exacte în care se produce transformarea martensitică, în concordanţă cu posibilităţile de utilizare a formei descoperite.

O altă regulă pentru definirea aliajelor cu memoria formei constă în existenţa unei structuri cristalografice ordonate. Se cunoaşte deja că aliajul Fe_3Pt cu structura ordonată prezintă o transformare martensitică termoelastică şi efectul de memoria formei, în timp ce la acelaşi aliaj Fe_3Pt cu structura dezordonată, de aceeaşi compoziţie, fenomenul nu se manifestă.

Acest lucru se explică prin faptul că la baza efectului de memoria formei, la fel ca şi a efectului de superelasicitate, stă reversibilitatea cristalografică completă a transformării martensitice.

Cercetările efectuate au arătat că în aliajele cu structură ordonată, calea transformării reversibile este unică, în contrast cu căile multiple existente în aliajele dezordonate structural. De aceea s-a propus ca reversibilitatea cristalografică completă a transformării martensitice este caracteristică numai în aliajele cu structură ordonată şi este raţional ca efectul de memoria formei să fie manifestat numai de către aceste aliaje. În plus, acomodarea plastică ireversibilă implică crearea superdislocaţiilor care, având energie internă ridicată, multiplică aceste dislocaţii în cristale dezordonate, în timp ce creşte

Scanned with OKEN Scanner

considerabil limita de curgere a matricei, ca rezultat al ordonării cristaline, aşa cum rezultă din fig. 8.

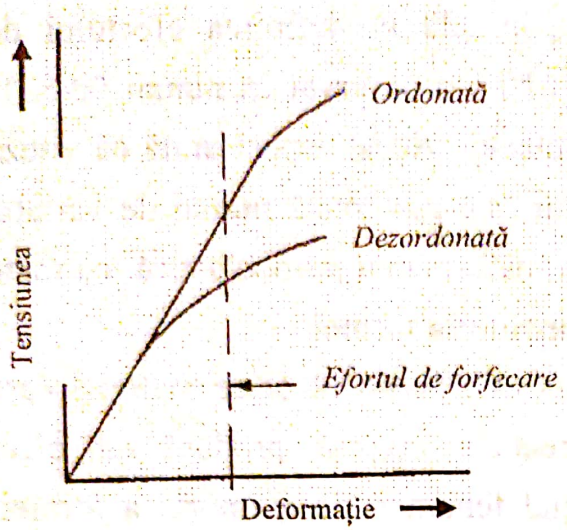


Fig. 8. Curbele tensiune-deformaţie pentru reţeaua cristalina ordonată şi dezordonată a martensitei

O altă cerinţă pentru obţinerea proprietăţilor de memoria formei este maclarea internă a structurii martensitice (maclele reprezintă grupări de cristale deformate şi orientate simetric faţă de restul reţelei cristaline). Mecanismul deformării plastice, fără deplasarea dislocaţiilor mobile, constă în demaclarea internă a substructurii martensitice. Procesul de deformare rezultă ca o demaclare selectivă, prin care una sau mai multe perechi de macle îşi orientează creşterea în mod diferit faţă de celelalte.

7. Efectul de memoria a formei şi efecte complementare

Când un material metalic convenţional este deformat plastic, deformarea are un caracter permanent după înlăturarea forţei, materialul poate fi adus la forma originală numai printr-o nouă deformare plastică.

Aliajele cu memoria formei se disting de cele uzuale prin aceea că, dacă sunt deformate plastic la cald, sub o anumită formă, şi apoi sunt răcite şi deformate la temperatura ambiantă, ele îşi reamintesc de forma lor iniţială prin încălzire. În funcţie de gradul iniţial de deformare, aceste aliaje îşi pot recăpăta forma iniţială total sau parţial în procesul de încălzire. Există două

tipuri de efecte de memoria formei : efectul simplu şi efectul dublu.

7.1. Efectul simplu de memoria formei

În stare martensitică la rece, aliajele cu memoria formei pot fi uşor deformate de la forma avută la cald, pentru a le fixa *forma la rece.* Singura restricţie impusă acestei deformări la rece este ca gradul de deformare să nu depăşească 8%. Această deformare plastică aparentă la rece poate fi complet modificată prin încălzire,când materialul revine la forma avută la cald.(Fig.9)

Acest fenomen este numit efect simplu de memoria formei, în care este memorată numai forma la cald. Temperatura de tranziţie dintre forma la rece şi forma la cald este determinată de natura aliajului şi de parametrii de procesare.

Un efect remarcabil suplimentar care se produce la încălzirea probei constă în apariţia unei tensiuni interne măsurabile în material, care poate produce lucru mecanic. O parte a energiei de transformare la încălzire este eliberată sub formă de tensiune mecanică internă acumulată în material.

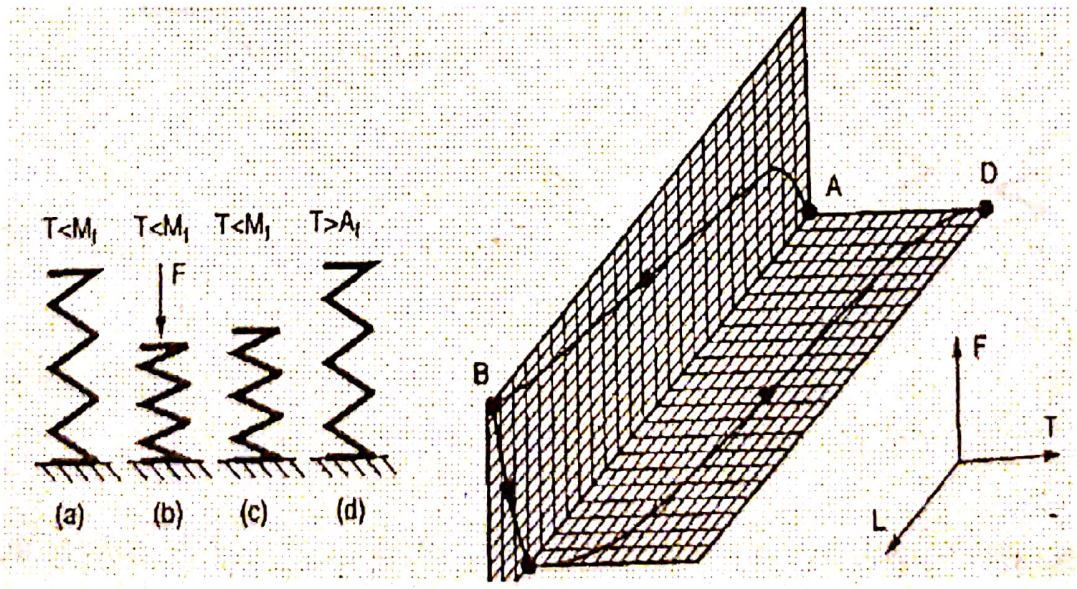


Fig. 9. Schema şi graficul efectului simplu de memoria formei

Scanned with OKEN Scanner

unde:

a) forma probei fixata la cald, aflată la temperatura ambiantă ($T<M_f$); b) schimbarea formei la rece ($T< A_f$) prin reducerea lungimii L (curba A-B) sub acțiunea forței F; c) forma la rece rămâne aproximativ constantă și după înlăturarea forței F (curba B-C); d) prin încălzirea probei peste A_f, aceasta revine la forma avută la cald, la lungimea L (curba C-D).

7.2. Efectul dublu de memoria formei

Efectul dublu de memoria formei se referă la memorarea în materialul metalic a două forme, în contrast cu efectul simplu, fără a fi aplicate forțe exterioare. Materialul își amintește de forma nedeformată la cald și de asemenea, de forma deformată la rece. Forma la rece este obținută spontan în perioada răcirii din faza austenitică. Efectul dublu de memoria formei se obține numai după un tratament termomecanic special, care poate fi aplicat acestor aliaje. În fig. 10 se prezintă schema efectului dublu de memoria formei, fără a fi aplicate forțe exterioare de deformare.

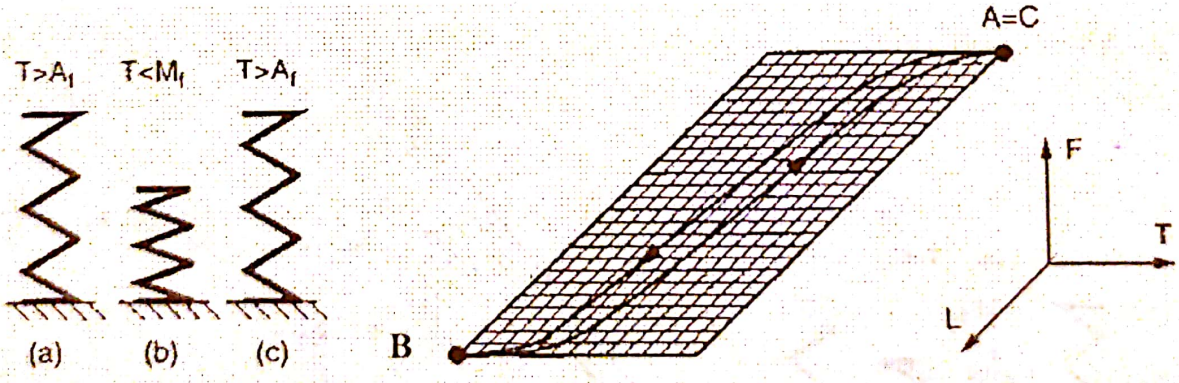


Fig. 10. Schema efectului dublu de memoria formei

unde:

a) forma materialului, obținută după deformarea la cald ($T>A_f$); b) forma obținută spontan la răcire ($T<M_f$), fără aplicarea unei forțe exterioare (curba A-B); c) forma redobândită (amintită) la încălzirea probei în domeniul austenitic ($T>A_f$) peste temperatura A_f (curba B-C).

Scanned with OKEN Scanner

7.3. Efectul de producere a tensiunilor interne

Acest efect se manifestă dacă revenirea la forma inițială austenitică este blocată în timpul încălzirii. Tensiunea internă care se induce crește treptat și poate atinge valoarea de 800 Mpa (figura 11)

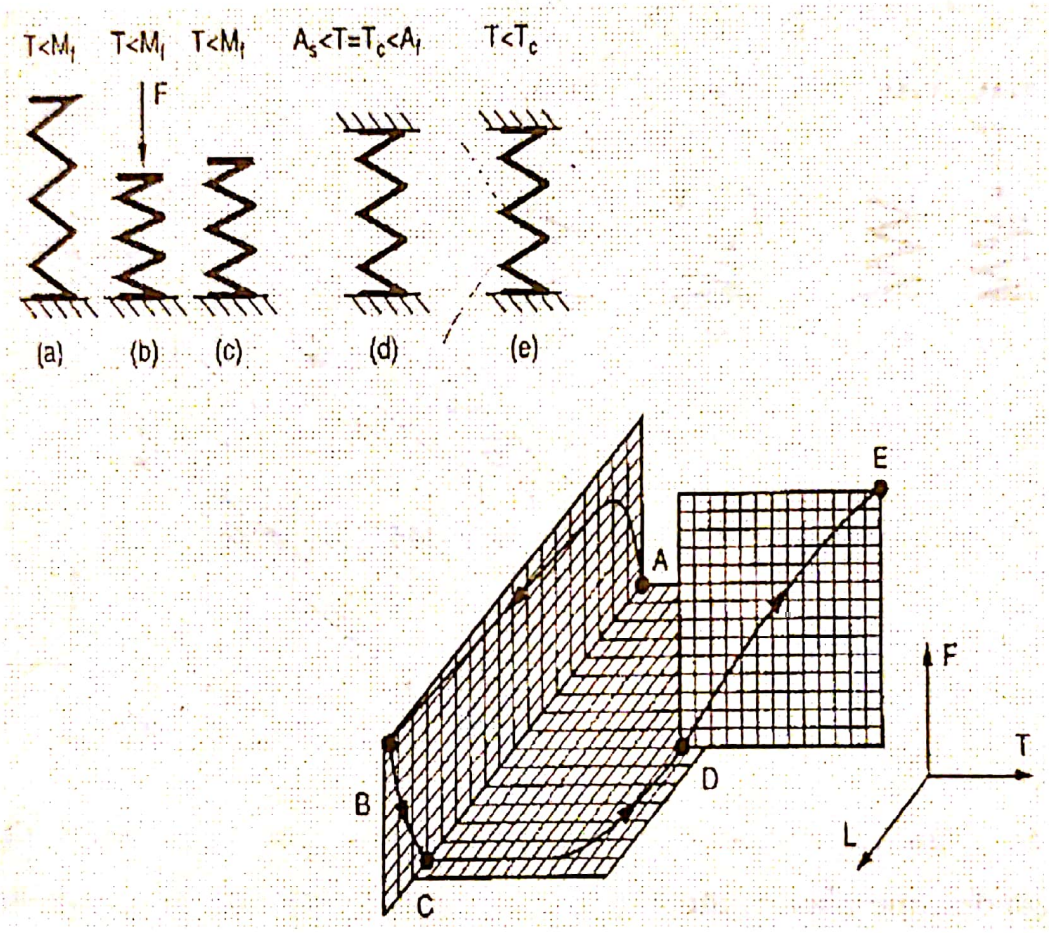


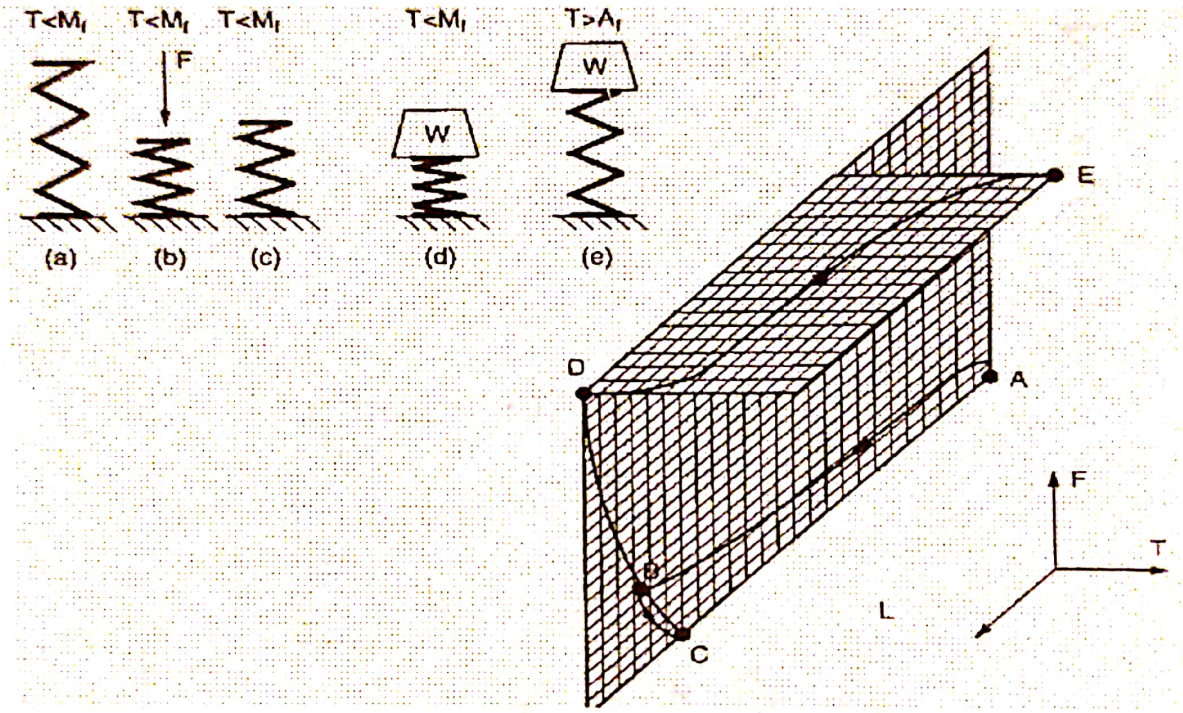
Fig.11. Schema fenomenului de inducere a tensiunilor mecanice interne în aliajele cu memoria formei

a) forma inițiala a probei, obținută la cald ($T>A_s$) și stabilizată la temperatura ambiantă ($T<M_f$); b) materialul este deformat sub forța F la temperatură joasă ($T<M_f$) conform curbeiA-B; c) după îndepărtarea forței, materialul se deformează limitat (curba B-C); d) la încălzirea materialului în domeniul A_s-A_f (curba C-D) deplasarea sa este limitată, fenomen ce conduce la generarea de tensiuni interne în aliaj (curba D-E proporțională cu temperatura de încălzire).

Scanned with OKEN Scanner

7.4. Efectul de producere a lucrului mecanic

Acest efect se produce în aliajele cu memoria formei la încălzire şi constă în deplasarea unei sarcini W sau în închiderea unui circuit mecanic sau biologic, efect prezentat schematic în figura 12.



7.5 Efectul de superelasticitate

În aliajele cu memoria formei acest efect este izotermal şi implică acumulare de energie potentială. Încărcarea izotermă la temperaturi mai mari decât A_f a elementului cu memoria formei, în condiţii de formă la cald, se manifestă într-o deformaţie reversibilă cu un histerezis larg (până la 8%), la un nivel de efort aplicat aproape constant (figura 13). Deformaţiile din material sunt complet restabilite în lipsa sarcinii aplicate. Nivelul de efort aplicat este în funcţie de natura aliajului şi de domeniul de temperatură; în general nivelul de efort creşte cu temperatura la care se produce deformarea

($T>A_f$). Aria cuprinsă între curbele histerezis A-B si B-C este măsura energiei elastice disipate într-un ciclu superelastic reprezentat de histerezisul A-B-C.

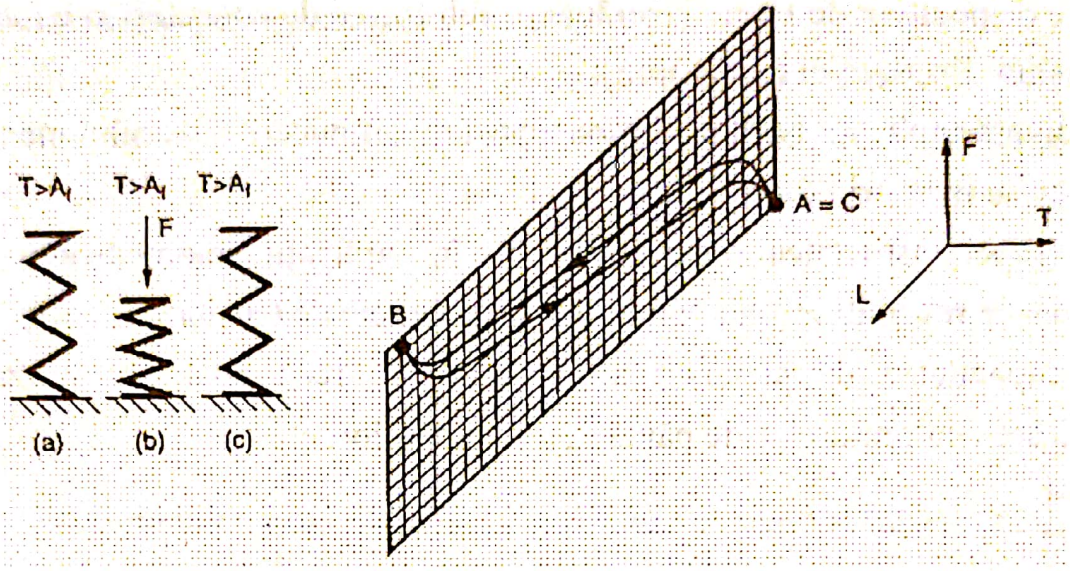


Fig. 13. Prezentarea schematică a efectului de superelasticitate

unde:

a) forma obtinută la cald a aliajului ($T>A_f$); b) la aceeaşi temperatură proba este deformată sub acţiunea forţei F (curba A-B); c) după anularea forţei, la aceeaşi temperatură ($T>A_f$), aliajul revine la forma de dinaintea deformării (curba B-C).

O comparaţie sugestivă a energiei elastice acumulate ca efect al fenomenului de superelasticitate este prezentată în figura 14 între oţel şi aliajul Nitinol.

În manifestarea fenomenului superelasticitate, se constată că deformarea produsă în material creşte cu temperatura, dar domeniul de temperatură în care se produce fenomenul este limitat. La temperaturi prea ridicate se produce deformarea plastică permanentă a materialului şi, în consecinţă, dispare elasticitatea. Proprietăţile manifestate de aliajele cu memoria formei pot fi împărţite în cinci clase, legate de aplicaţiile tehnologice:

a) efectul simplu şi dublu de memoria formei poate fi utilizat pentru aplicaţii tehnice de revenire la o anumită formă, prin mişcări fără intervenţia

Scanned with OKEN Scanner

unei forţe exterioare. Ca exemple pot fi date diverse dispozitive de indicare a temperaturii, antene spaţiale, supape şi filtre pentru vena cavă;

b) efectul de generare a unei tensiuni mecanice poate fi utilizat pentru diverse dispozitive de fixare şi strângere sub formă de conectori şi cuplaje de dimensiuni foarte mici (sub 1 mm);

c) diverse aplicaţii bazate pe capacitatea de producere a lucrului mecanic a aliajelor cu memoria formei;

d) superelasticitatea este utilizată în aplicaţii biomedicale, unde deformările reversibile sunt combinate cu palierele de tensiuni interne;

e) capacitatea de atenuare a vibraţiilor la rece poate fi utilizată în amortizarea cutremurelor de pământ, a trepidaţiilor, etc.

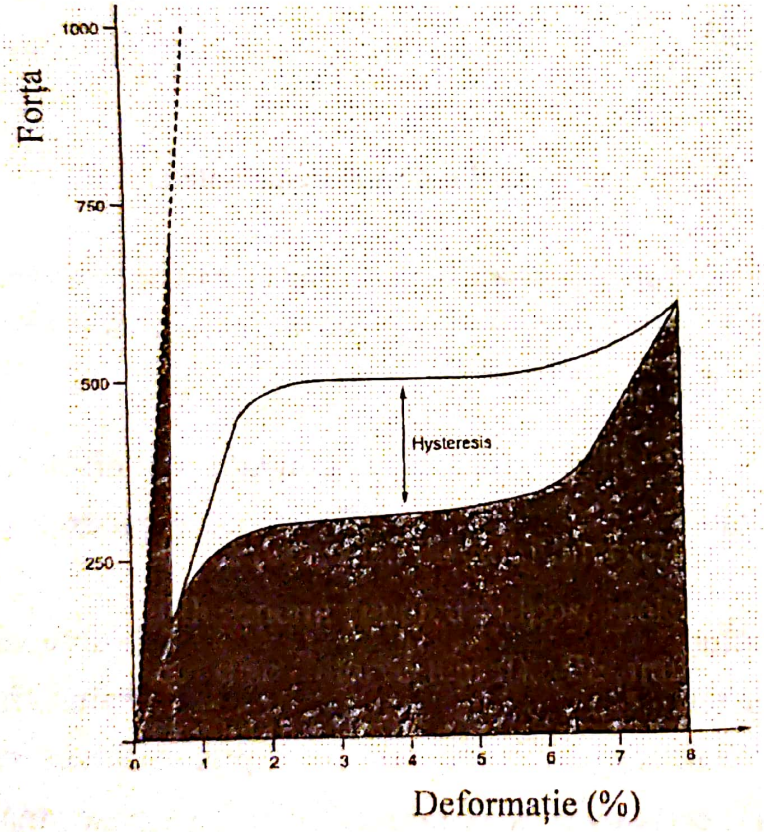


Fig. 14. Comparaţie între energia elastică pentru oţel (relaţie liniară tensiune-deformaţie) şi aliajul Nitinol (relaţie tip histerezis)

8. Aplicaţii biomedicale ale aliajelor cu memoria formei

În ultimii ani, aliajele cu memoria formei au avut un succes comercial deosebit, determinat mai ales de aplicaţiile biomedicale. Combinaţiile

posibile între valorile ridicate ale biocompatibilităţii, rezistenţei mecanice şi ductilităţii pe de o parte, cu proprietăţile funcţionale specifice, ca efectul de memoria formei şi superelasticitatea pe de altă parte, au asigurat materiale unice pentru aplicaţii medicale.

Efectul de superelasticitate al aliajelor cu memoria formei, ca rezulat al combinaţiei unice dintre rezistenţa mecanică, rigiditate şi flexibilitate este oferit numai de aceste aliaje. Caracterul dependenţei de temperatură a efectului de superelasticitate este mai puţin important în domeniul biomedical, datorită temeperaturii joase şi relativ stabile a corpului uman.

8.1. Aplicaţii în ortopedie

În acest domeniu medical au fost concepute, realizate şi testate mai multe componenete şi dispozitive protetice care sunt prezentate în continuare:

- utilizarea unor ştifturi (ace) superelastice pentru fixarea oaselor miniaturale de ţesuturile tari prin procedeul suturii;
- conectarea etanşă a unor părţi de oase prin intermediul unor sârme circulare superelastice cu memoria formei
- utilizarea de sârme circulare cu memoria formei pentru reglarea sub tensiune controlată a unor componente protetice;
- fixarea şi blocarea manşonului cupei acetabulare a protezei de şold, cu ajutorul unor inele cu memoria formei (fig. 15);
- utilizarea de ştifturi (tije) intramedulare autoextensibile din aliaje cu memoria formei, pentru fixarea fracturilor, de-a lungul oaselor fracturate. Aceste dispozitive au forţa de inserţie slabă şi sunt flexibile, spre deosebire de sistemele convenţionale care au forma cilindrică invariabilă;
- repoziţionarea şi fixarea unor părţi de oase fracturate cu ajutorul clemelor cu memoria formei, pentru osteosinteza osului;
- realizarea de plăci compresive de fixare a fracturilor;

Scanned with OKEN Scanner

- confecţionarea şi utilizarea de tije superlastice pentru corectarea graduală a scoliozei prin procedee de relaxare a ţesutului osos;
- dispozitive pentru extragerea şuruburilor de fixare a oaselor fracturate;
- sârme tensionate superelastic pentru fixarea implantelor de şold în ţesutul osos;
- plăci de compresie în osteosinteze;
- dispozitive de fixare externă cu grad înalt de ajustare, închise prin articulaţii inel-sferă, sensibile la temperatură;
- conectori pentru implante ortopedice modulare.

Dintre dispozitivele menţionate mai sus, două tipuri s-au extins spectaculos în domeniul medicinei ortopedice şi anume plăcile de fixare dinamică a oaselor fracturate si dispozitivele intramedulare de fixare a oaselor lungi.

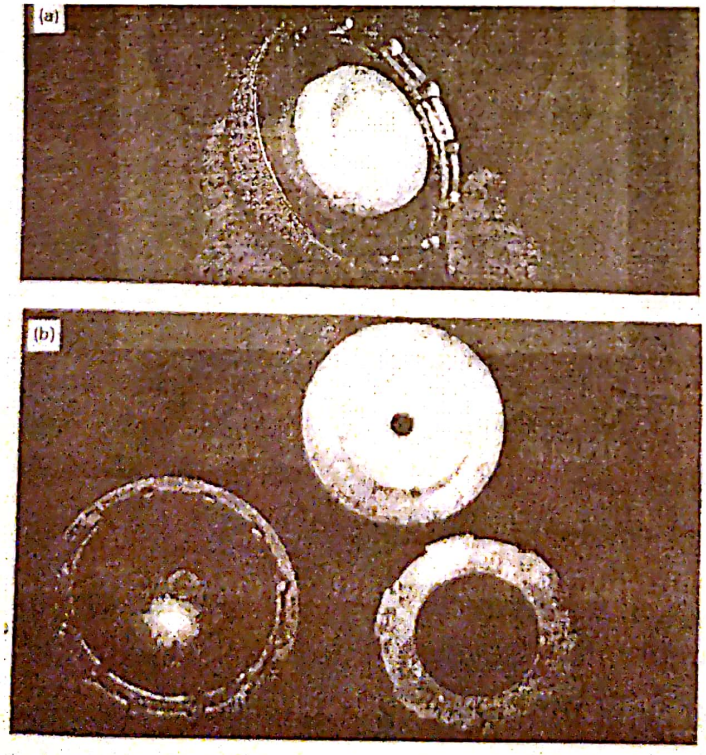


Fig. 15. Inel de blocare cu memoria formei pentru fixarea manşonului în cupa acetabulară a protezei de şold: a) cupa asamblată; b) elemente componente ale cupei acetabulare: cupa, manşonul şi inelul din aliaj NiTi cu memoria formei.

Scanned with OKEN Scanner

Plăcile de fixare ale oaselor fracturate sunt prinse în şuruburi, cu acoperirea zonei fracturate cu aceste plăci, pe de o parte, urmată de întinderea (tensionarea) osului fracturat, pe de alta parte. În zona de îmbinare a fracturii este posibilă o mişcare relativă între şuruburi şi plăci pe direcţia axială osului, fragmentele de oase rupte sunt trase împreună către zona fisurată şi astfel se produce efectul de compresie şi de fixare rigidă a fragmentelor de oase.

Ca urmare a efectului de memoria formei al plăcilor de compresie dinamică NITINOL, procesul de strângere se realizează prin revenirea plăcii tensionate la forma sa originală. În acest fel sunt evitate efectele nedorite de deformare şi uzură a găurilor, aşa cum se întâmplă la plăcile convenţionale.

Dispozitivele intramedulare de fixare a fracturilor constau într-o tijă (stift) care este condusă în cavitatea canalului medular, fixând fragmentele de oase rupte unele de altele. Dacă fixarea tijei în canalul medular este prea strânsă, este posibil ca după vindecarea fracturii, la extragerea din canal să se producă lezarea structurii osului. Acest lucru poate fi evitat prin utilizarea tijelor realizate din aliaje cu dublu efect de memorie a formei.

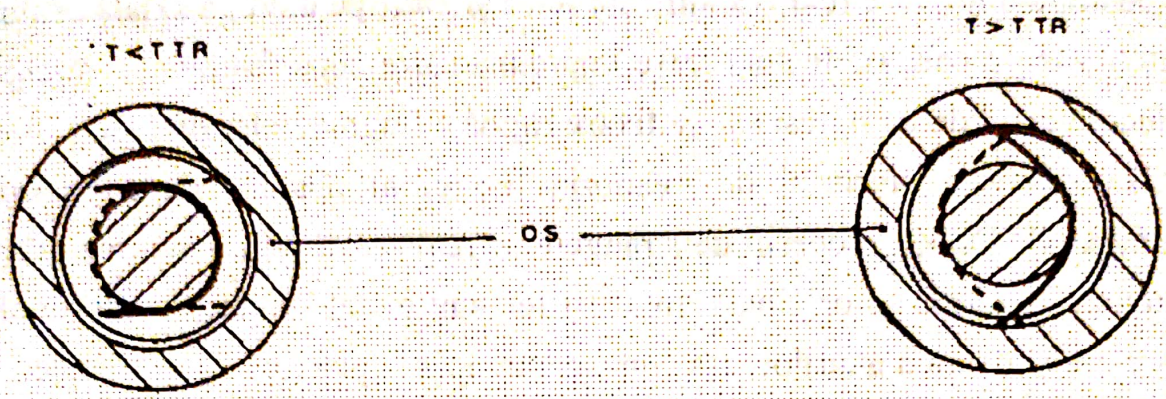
Dacă diametrul exterior reglabil al tijei este mai mic decât diametrul canalului medular, inserţia se va face cu uşurinţă. Pe corpul uman cald, tija fixată în canal îşi recapătă diametrul original lărgit şi astfel se fixează strâns în canalul medular. După vindecarea fracturii, când temperatura zonei fracturate scade la valoarea normală, tija revine la diametrul iniţial şi astfel va putea fi extrasă uşor din canal.

În figura 16 se prezintă principiul de funcţionare a elementelor de fixare a tijei executae din aliaje cu memoria formei, care trebuie să îndeplinească următoarele condiţii:

- la temperatură joasă ($T<M_f$) tija va avea forma potrivită (contractată) pentru inserţia şi extracţia cu uşurinţă în şi din canalul medular;
- la temperatură mai ridicată ($A_f<T\leq 37^oC$) tija trebuie să se fixeze strâns în canalul medular al osului fracturat, fără a cauza lezarea structurii osului;

Scanned with OKEN Scanner

- prin strângerea la cald, tija trebuie să aplice o importantă compresie în scopul presării şi fixarii împreună a segmentelor de oase fracturate.



a) b)

Fig. 16. Schema de fixare a tijei intramedulare
a) în poziția de introducere în canal; b) în poziţia de fixare tensionată în canal; TTR- domeniul temperaturii de transformare martensitică.

(A_f) compresie tijă = max. 30°C.

În funcționarea dispozitivului de fixare menționat trebuie să existe asigurări că începutul compresiei axiale şi fixarea elementelor reglabile cu memoria formei vor fi realizate înainte ca tija să atingă temeperatura corpului. În schema prezentată în figura 17 se prezintă funcționarea tijei intramedulare in procesul de strângere şi fixare a oaselor fracturate.

8.2. Aplicații în domeniul chirurgiei vasculare şi al inimii artificiale

În acest domeniu medical se menționează trei aplicații ale aliajelor Nitinol, cu efect de memoria formei: muschiul inimii artificiale, filtrul pentru vena cavă şi clipuri anevrisme intercraniene.

Mușchiul inimii artificiale este un element contractil, făcut din copolimer acetat de vinil etilenă. Mușchiul inimii artificiale conține segmente de sârmă

din Nitinol sub formă ondulată sinusoidal continuu, ancorate în exteriorul camerelor alveolare, în diferite module contractile, încercând să reproducă contractarea ventriculului stâng al inimii.

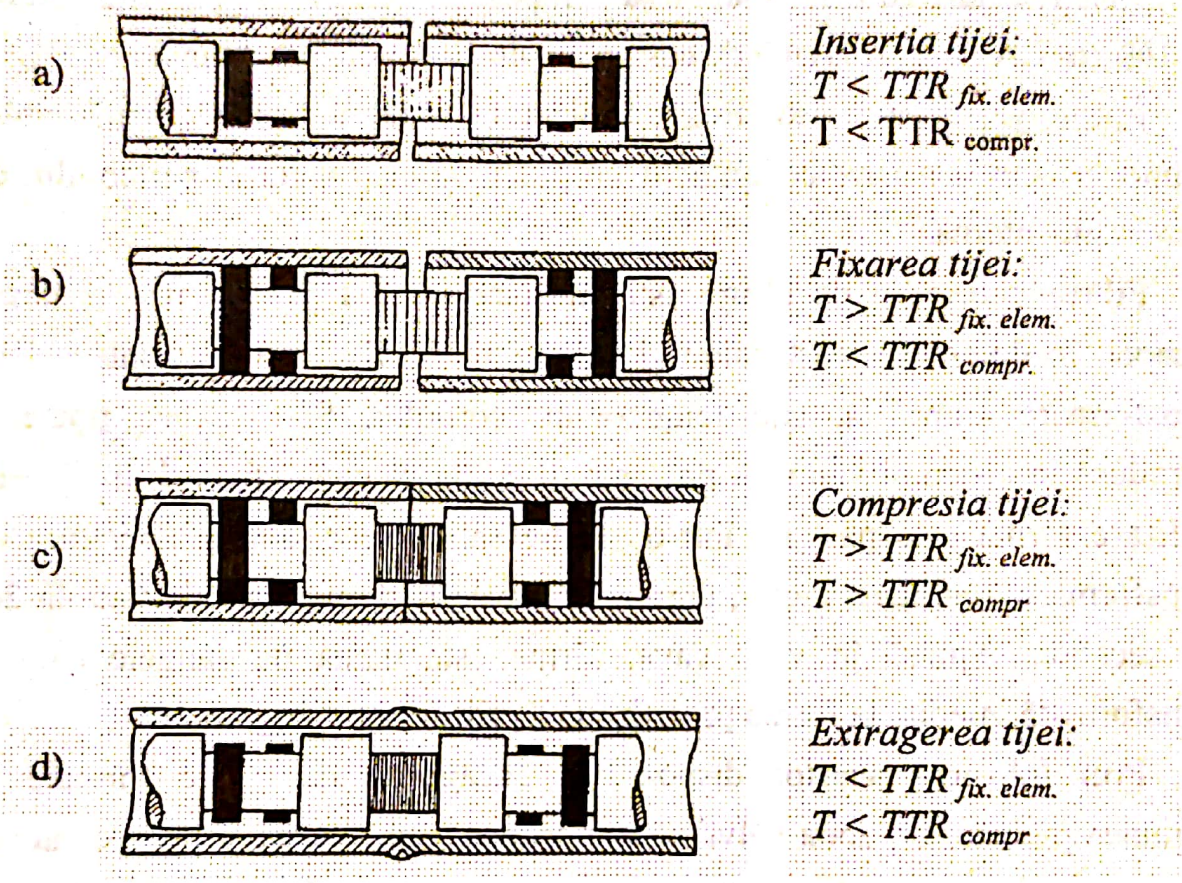


Fig. 17. Schema de introducere, funcționare și extragere a tijei intramedulare realizată din elemente cu memoria formei

a) forma rece a tijei la inserția în canalul medular; b) forma caldă a elemntelor de strângere radială a inelelor de fixare; c) forma caldă a tijei de compresie (strângere) axială, cu apropierea și strângerea celor două fragmente de oase; d) forma rece de extracție a tijei după vindecarea fracturii

La încălzirea ciclică a diferitelor grupe de sârmă NITINOL, deasupra domeniului temeperaturii de transformare –TTR (care este selectat între 40-54°C), cu o sursă de energie electrică programată secvențial, porțiuni diferite ale camerei inimii sunt contractate secvențial, producând pomparea.

Viteza de contracţie a diferitelor grupe de sârme este preluată şi distribuită către inima, care limitează viteza de contracţie pentru fiecare grup.

La transformarea inversă – prin răcire – sârmele vor fi tensionate şi vor acţiona asupra peretelui camerei elastice, aducând-o la forma iniţială. Modelele realizate au fost capabile să pompeze 25-35cm^3 de apa, la presiunea de 160 cm CA, la o frecvenţă de contracţie de 12-15 cicluri / minut.

Filtrul venei cave este foarte utilizat în tratarea tromboembolismului pulmonar acut, dacă anticoagulanţii nu pot fi folosiţi datorită pericolului de hemoragie internă.

Filtrul cheagului de sânge este în stare initială sub formă de sârmă dreaptă, în domeniul martensitic al aliajului NITINOL, cu un interval de transformare completă, sub temperatura corpului. Sârma rece poate fi introdusă în sistemul venos al pacientului cu un cateter standard. Înainte de utilizare sârma este păstrată într-o soluţie salină rece, sub temperatura de transformare; din acest motiv, durata introducerii sârmei este limitata la 20-30 secunde. Ajunsă în vena cava, sârma este udată de sângele cald şi transformată imediat la forma prestabilită de filtru rigid (figura 18).

Prin folosirea acestor dispozitive, cheagurile de sânge formate în regiunea picioarelor, zona pelviană sau coapse sunt blocate şi impiedicate să se deplaseze către inimă sau plămâni, în timp ce se permite circulaţia sângelui normal (fluid).

Clipurile anevrismale intercraniene sunt dispozitive concepute şi create în ultimii ani, folosite pentru a limita sau a strange inflamaţiile nedorite din arterele intercraniene.

Un model practic realizat, care poate fi cu uşurinţă montat şi deplasat, este realizat dintr-un aliaj pe bază de argint, sub forma de lamelă, pe care este fixă aliajul Nitinol cu memoria formei. Tensiunea de strângere este în funcţie de temperatura corpului din zona în care a fost plasat.

Scanned with OKEN Scanner

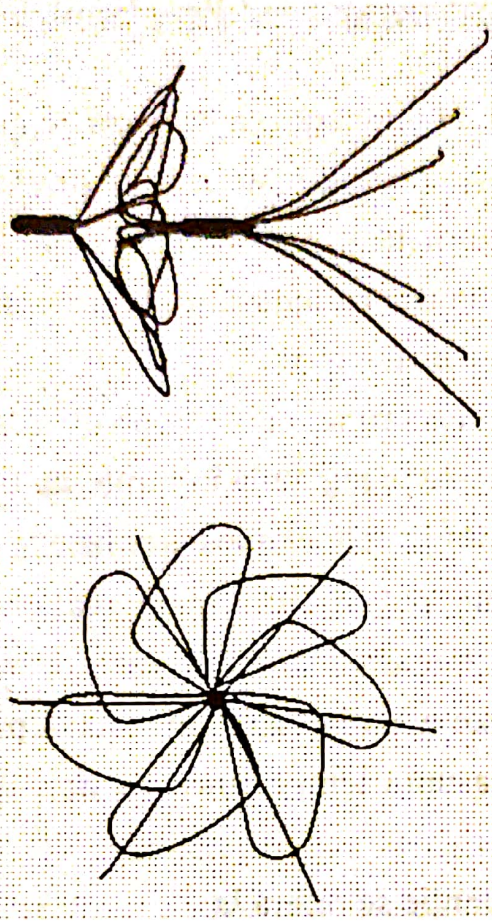


Fig.18 Schema filtrului Nitinol
Implantat în vena cavă

8.3.Aplicații în domeniul ortodonției

Sârmele sub forma de arc au fost primele aplicații biomedicale în domeniul ortodontic. În timp ce în cazul arcurilor executate din oțel inoxidabil, forța de mișcare și relaxare a dinților se aplică rapid, în cazul sârmelor arc din aliajele NITINOL, corectarea poziției dinților se face sub efort constant pe toată durata tratamentului, cu deplasări pronunțate a dinților deformați, fără ca sârmele-arc să fie tensionate excesiv. Energia elastică acumulată sub stresul maxim este mult mai mare în materialele superelastice decât în oțel, aspect pus în evidență și în figura 14. La aceste materiale poate fi ales un domeniu larg de valori ale raportului forța/deformație, histerezisul se intinde pe suprafața largă. Platoul de stres al histerezisului depinde de diferența relativă dintre temperatura ambiantă și temperatura de transfor-

Scanned with OKEN Scanner

mare, nivelul său fiind mare pentru sârme cu temperatura de transformare joasă.

Un nou tip de sârme ortodontice Nitinol au temperatura de transformare martensitică sub cea a corpului şi în consecinţă platoul histerezis se produce la temperaturi joase. Avantajele acestei transformări sunt: tratamentul are loc în timp scurt şi deci costurile vor fi reduse şi tensiunea indusă în dinţi rămâne constantă şi nu ajunge la un nivel la care să cauzeze durere.

La ora actuală se utilizează diferite tipuri de sârme, cu secţiune circulară sau rectangulară, cu diametru variabil şi cu tensiune reglabilă în limite largi.

Pe lângă sârmele arc sunt larg utilizate implantele endoosoase bazate pe efectul de memoria formei. Aceste implante pot fi sub formă plată sau circulară, forma de utilizare depinzând de numărul de dinţi care trebuie corectaţi. După inserţia implantului acesta este adus la forma prevăzută prin încălzire la temperatura de maxim 30^0C, deasupra temperaturii de transformare austenitică A_f din material.

Alte tipuri de dispozitive utilizate în ortodonţie se referă la:

- implante pentru rădăcină dintelui care stabilizează legătură cu osul; rădăcina cu memorie metalică este deformată şi blocată puternic pe os, după atingerea temperaturii corpului;
- plăci dentare, ajustabile cu autoblocare, sensibile la temperatură;
- mecanism ajustabil cu cap telescopic pentru repoziţionarea dinţilor molari; acest dispozitiv utilizează un aliaj cu memorie sub formă de inel de blocare, care previne mişcarea relativă dintre capul interior din sârmă şi capul mecanism tubular. Reglarea lungimii sau unghiului este facilitată prin răcirea inelului de blocare;
- acţionări superelastice de mici tensiuni create spaţial sau închise spaţial între diverse elemente ale cavităţii bucale;
- sutura grea expandabilă, cu dispozitiv superelastic de schimbare a deschiderii mandibulei;

Scanned with OKEN Scanner

- sârme sau benzi martensitice deformabile pentru reținerea dinților după corecție;
- conectori speciali, în formă de pană, care leagă doi dinți împreună;
- console ortodontice reglabile cu posibilitate de control unghiular sau torsional.

8.4.Aplicații în domeniul instrumentarului medical

Dezvoltarea chirurgiei miniaturale invazive a condus la crearea de noi instrumente bazate mai ales pe proprietățile superelastice ale aliajelor metalice.

Instrumente foarte flexibile şi tactile, care sunt capabile să penetreze în jurul corneei, sunt utiliate la ora actuală pentru intervenții delicate şi complexe.

În minichirurgia invazivă se utilizează instrumente din aliaje superelastice care pot fi deformate de zece ori mai mult decât materialele convenționale, cu o excelentă rezistentă la uzură. În figura 19 se prezintă un forceps încastrat (fără articulație) din aliaj NiTi superelastic.

Un nou tip de forceps apucator este realizat cu un cioc tratat la cald, care îşi aminteşte de poziția deschisă (figura 20). Ciocul poate fi inchis prin înaintarea unui tub peste partea flexibilă a fălcilor. Aliajele NiTi sunt de asemenea utilizate sub forma de tije, stileți, sârme-ghidate, cathere, întinzători, filtre, ancore de tesuturi, conectori şi alte instrumente chirurgicale.

8.5. Concluzii

Proprietățile funcționale ale aliajelor cu memoria formei sunt considerate ca având rezistență corespunzătoare la coroziune, valori ale caracteristicilor mecanice ridicate şi bună compatibilitate. Cele mai remarcabile utilizări ale acestor aliaje sunt aplicațiile medicale bazate pe

Scanned with OKEN Scanner

efectul de superelasticitate. De asemenea este important de remarcat că designul aplicațiilor pentru memoria formei cere întotdeauna un mod specific de abordare, complet diferit de al materialelor convenționale.

Investigațiile privind utilizarea aliajelor cu memoria formei în domeniul medicinii sunt în plină desfăşurare, noutăţile apar zilnic şi sunt comunicate în reviste de specialitate şi la reuniunile ştiinţifice internaţionale din domeniul medical.

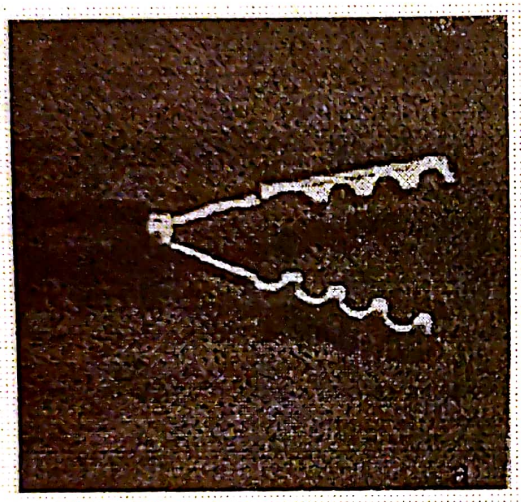


Fig. 19 Forceps superelastic pentru chirurgia lamelară endoscopică

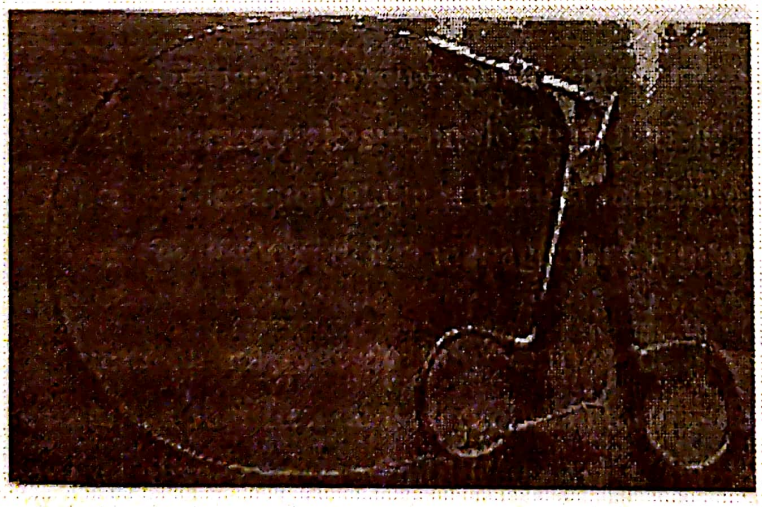


Fig. 20. Dispozitiv de prindere superelastic executat dintr-un tub de NITINOL

Scanned with OKEN Scanner

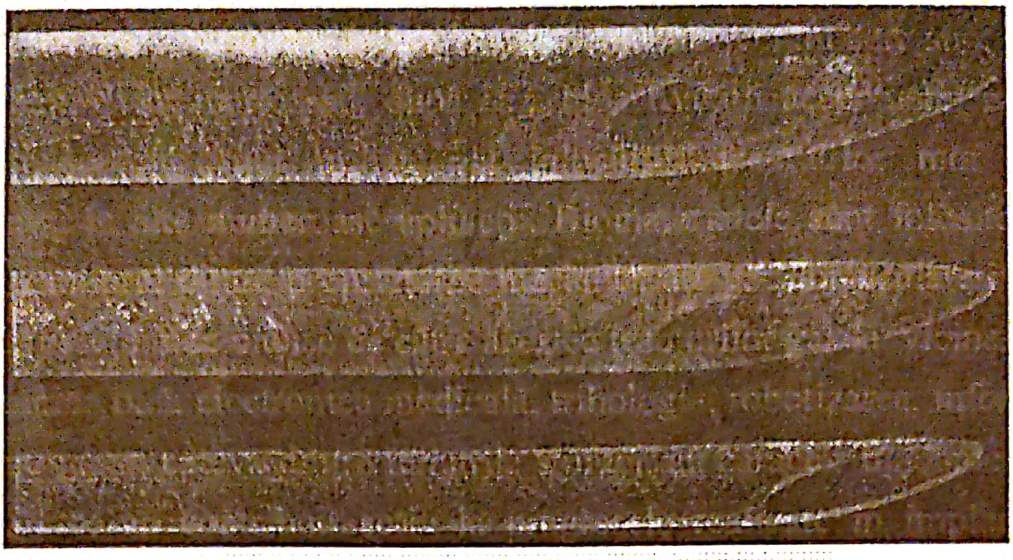


Fig. 21 Tije tubulare realizate din aliaj superelastic NiTi

Bibliografie

1. Besselinik, P.A. si Sachdera R.C.L., *Application of Shape Memory Effects*, Journal of Physycs nr. 4 / 1995
2. Duering, T. W. si Melton K.N., Stockel D., *Engineering Aspects of Shape Memory Alloys*, Butterworth-Heineman, London, 1998
3. Ducheyne, P., *Metal and Ceramic Biomaterials*, CRC Press Inc. Boca Raton, Florida 1990
4. Galestaneh, A.A., *Martensitic Phase Transformation in Shape Memory Alloys*, Proceedings ICOMAT 7 Press, Cambridge, 1979
5. Helsen A. Jef, *Metals as Biomaterials*, Editura John Wiley and Sons, 1999
6. Lange R.J. si Zijderveld I.A., *Shape Memory Effect and the Martensitic Transformation of Alloy*, Journal Application Physical, 1988
7. Makker R., Eigler N., Fornester J.S. si Litwach F., *Technical and Engineering Aspects of Stens*, Endoluminal Stenting, London, 1996
8. Melton K.N., *Engineering Design and Application of Shape Memory Materials*, Shape Memory Materials, International Academic Publisher, Beijing, 1994

Scanned with OKEN Scanner

V

Sisteme transdermale

Mihai CHIRIŢĂ, Gabriela GEORGESCU, Maria Daniela VLAD,
Mona CIUBOTARIU

CUPRINS

1. Introducere 159
1.1. Scurt istoric 160
1.2. Sisteme transdermale existente pe piaţă 161
1.3. Factori care determină transportul percutanat al principiilor active 173
1.4. Mecanisme de traversare a membranelor biologice 175

2. Pielea ca barieră şi organ imunologic 180
2.1. Funcţia de apărare a pielii 186
2.2. Funcţia imunologică a pielii 187
2.3. Rolul lipidelor în funcţia de barieră a pielii 189

3. Principii farmacologice ale permeaţiei prin piele 191
3.1. Factori de formulare. Factorii fizico-chimici ai transportului 197
3.2. Căi fizico-chimice de creştere a permeabilităţii pielii 203
3.2.1. Modificatori chimici ai permeabilităţii 203
3.2.2. Metode fizice de mărire a permeabilităţii pielii 208

Scanned with OKEN Scanner

4. Tipuri de siteme transdermale 213
4.1. Noţiuni generale 213
4.2. Sisteme transdermale de tip rezervor 218
4.3. Sisteme transdermale monolit 220
4.4.Controlul ratei de eliberare a substanţei biologic active 222
4.5. Criterii de alegere a substanei medicamentoase 227
4.6. Componenţa sistemelor transdermale 230

5. Permeabilitatea pielii. Modele matematice. 233
5.1. Consideraţii teoretice 235
5.2. Simulări în condiţii variabile 239

6. Modelarea matematică asistată de calculator a sistemelor cu eliberare transdermală a principiilor active 247
6.1. Exemplul 1 250
6.2. Exemplul 2 252
6.3. Exemplul 3 256
6.4. Exemplul 4 258
6.5. Exemplul 5 260

7. Proiectarea asistată de calculator a sistemelor transdermale 263

Bibliografie 273

Scanned with OKEN Scanner

Sisteme transdermale

Mihai CHIRIȚĂ, Gabriela GEORGESCU, Maria Daniela VLAD,
Mona CIUBOTARIU

1. Introducere

Progresele rapide realizate în ultimii ani de ştiinţele biologice au deschis noi posibilităţi pentru înţelegerea proceselor normale şi patologice, cât şi în realizarea de noi substanţe medicamentoase specifice şi eficiente. Descoperirile recente în biologia celulară şi moleculară, în domeniul biomaterialelor, noile tehnici, îndeosebi cele ale ingineriei genetice au îmbogăţit posibilităţile de cercetare în patologia biochimică, oferind o cale mai raţională pentru realizarea de noi tipuri de agenţi terapeutici.

Începutul acestui mileniu oferă imaginea unor succese încă neântalnite în terapia medicamentoasă. Terapia medicamentoasă actuală prezintă unele limitări importante. Deşi se cunosc substanţe medicamentoase deosebit de eficiente, efectul lor este diminuat din cauza dificultăţii de a-şi găsi drumul la locul acţiunii farmacologice, într-o concentraţie corespunzătoare. De obicei depăşirea acestui inconvenient se face prin administrarea unor doze mari, care atrage după sine o încărcare medicamentoasă a întregului organismului, cu efecte secundare nedorite.

Din această cauză cercetarea în domeniu are obiective particulare cum sunt: o cinetică controlată şi reproductibilă a cedării substanţei medicamentoase; absorbţie optimă; o distribuţie sistemică în compartimentul vascular cuplată cu pătrunderea la locul specific acţiunii; o biodisponibilitate corespunzătoare şi reproductibilă; o toleranţă bună locală şi generală.

Elementul de noutate al terapiei şi al formulării medicamentelor îl constituie conceptul de terapie medicamentoasă asigurată prin eliberarea

Scanned with OKEN Scanner

controlată a principiilor active. Realizarea unor astfel de sisteme a fost posibilă ca urmare a unor progrese remarcabile ale biologiei celulare şi moleculare, farmacologiei, biofizicii, bioingineriei, toate acestea coroborate cu matematica şi informatica.

Pornind de la constatarea că medicamentele administrate pe cale orală sau parenterală sunt adesea toxice sau ineficiente, ori prezintă fluctuaţii mari ale concentraţiilor, în ultimul deceniu cercetările sau orientat asupra sistemelor transdermale.

1.1. Scurt istoric

Nenumăratele experienţe cu pomade, creme sau loţiuni au arătat că multe dintre principiile active nu pot traversa pielea şi prin urmare, acestea nu au acţiune sistemică. Pe de altă parte, cauza intoxicaţiilor din diverse locuri de muncă a fost explicată prin difuzia agenţilor toxici prin bariera cutanată. Studiile de permeabilitate efectuate pe piele au dus la concluzia că transportul unei molecule prin această barieră depinde de structura şi de proprietăţile sale fizico-chimice.

Dintre avantajele sistemelor transdermale sunt: cedarea şi absorbţia controlată, evitarea primului pasaj hepatic, menţinerea constantă şi pe termen lung a concentraţiei principilui activ în circulaţia sistemică, uşurinţa întreruperii tratamentului şi acceptarea cu uşurinţă de către toate categoriile de pacienţi.

La începutul secolului s-a descoperit că dimetil sulfoxidul poate ajunge în circulaţie când este plasat pe piele. În timpul celui de-al doilea război mondial muncitorii care lucrau la fabricile de muniţii şi sufereau de angină pectorală au avut mai puţine atacuri când lucrau cu nitroglicerină. Ca urmare a acestor observaţii, în 1954 au fost introduse pe piaţa medicamentelor primele alifii cu nitroglicerină.

Scanned with OKEN Scanner

Interesul pentru producerea şi folosirea medicamentelor cu aplicare transdermală a crescut din anii '60 -'70. Iată câteva puncte de reper în dezvoltarea sitemelor de eliberare controlată a medicamentelor transdermale: primul bandaj transdermal cu scopolamină produs de Alza Corp. alături de cel cu nitroglicerină (1981, Alza Corp.-Ciba-Geiaj); 1982, Nitro-Dur (Key), Nitro-Disc (Searle); 1985, Catapress-TTS pentru clonidină (Boehringer Ingelheim folosind tehnologie Alza), Estraderm (CIBA) pentru estradiol; 1995, bandaje cu nicotină (companii diferite); Duragesic (Janssen) pentru fentanil; Testoderm (Alza Corp.) pentru testosteron; Deponit (Wieth-Ayerst), Nitrocine (Schwartz Pharma), Minitran (3M) pentru nitroglicerină.

1.2. Sisteme transdermale existente pe piață

La ora actuală există doar un număr restrâns de substanțe care se pot administra pe cale transdermală, dintre care: scopolamina, nitroglicerina, clonidina, estradiolul, fentanil, nicotina, testosteronul.

Scopolamina a fost primul medicament apărut pe piață sub formă de sistem transdermal (Transderm-Scop, produs de firma Ciba-Geigy, figura 1.1.) cu scopul de a elimina inconvenientele date de răul de transport. În cazul administrării pe cale orală s-a observat că efectul său este foarte scurt ca durată, datorită metabolizării sale rapide în ficat. De asemenea sunt asociate şi efecte secundare o dată cu atingerea peak-ului plasmatic (tulburări de vedere, somnolență , tahicardie).

Transderm-Scop este un sistem prin care substanța activă se eliberează după ce trece prin stratul adeziv. Stratul posterior este alcătuit dintr-un film impermeabil de poliester şi aluminiu. Scopolamina se află incorporată intr-un film de poliizobutilenă. Stratul adeziv cuprinde scopolamina într-un film de ulei mineral sau de poliizobutilenă. La exterior se află o membrană cu micropori ce separă sistemul de piele. Acest sistem este capabil să mențină concentrații terapeutice în corp eliberând 0,5 mg substanță în trei zile totdată

Scanned with OKEN Scanner

evitând şi efectele secundare asociate administrării orale.

Eliminarea scopolaminei după aplicarea unui disc transdermic este asemănătoare cu cea obținută după administrarea unei perfuzii de 20,6 μg / h, cu diferența că scopolamina fixată pe piele necesită un timp suplimentar de eliminare. Se ştie că sistemul Scopoderm conține 1,5 mg scopolamină a fost conceput pentru a elibera 0,5 mg alcaloid timp de trei zile.

Fig.1.1. Sistemul Transderm Scop

Nitroglicerina este utilizată de mai bine de un secol pentru prevenirea atacurilor de angină pectorală. S-au făcut cercetări în vederea obținerii de compuşi cu o valoare terapeutică mai mare şi astfel au apărut mononitrat de 5-isosorbit şi dinitrat de isosorbid la care durata de acțiune este mai lungă ca a moleculei de bază.

În tabelul 1.1. se pun în evidență diferențele între formele farmaceutice ale acestei substanțe. Nitroglicerina este o substanță biologic activă cu timp de înjumătățire foarte mic, de 1-4 minute şi o biodisponibiltate orală scăzută (<1%). Transportul percutanat este relativ eficient.

În anii '80 au apărut aproape simultan trei tipuri de patch-uri Transderm-Nitro (Cyba-Geigy), NitroDur (Key Pharmaceuticals), NitroDisc (Searle).

Se observă că, aplicată pe piele, nitroglicerina are efecte terapeutice vizibile având o concentrație suficient de bună de-a lungul timpului contrastând cu cele obținute prin celelalte metode de administrare. În ciuda acestui avantaj există şi un dezavantaj important, şi anume toleranța.

Scanned with OKEN Scanner

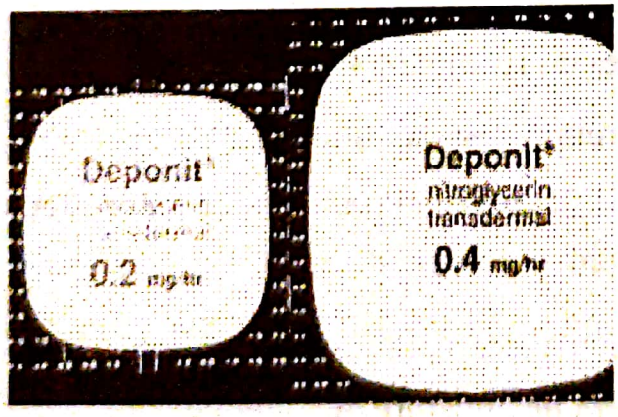
Tabelul 1.1.

Forme farmaceutice cu nitroglicerină

Compus	Forma farmaceutică	Durata de acțiune (h)
Nitroglicerină	Compus perlingual Capsule retard Unguent 2% Sistem transdermic	0,3-0,75 <10 3-6 >24
Mononitrat de 5-isosorbid	Comprimate	>7
Dinitrat de isosorbid	Comprimate Comprimate retard Cremă 10%	2- 4 6-10 <12
Tetranitrat de pentraeratritil	Comprimate Comprimate retard	2- 4 10-12

Deşi rata de eliberare a substanței biologic active rămâne constantă în 24 ore, se observă o scădere a efectelor terapeutice până la dispariția lor totală. Problema nu se rezolvă prin creşterea dozei, ci prin utilizarea unor pauze în administrare, adică într-un interval de 24 ore doar 12-16 ore să se folosească patch-ul. Acesta este aplicat dimineața după duş, iar noaptea se îndepărtează considerându-se că în această perioadă pacienții sunt mai puțin susceptibili la atacuri de angină. Transderm-Nitro este alcătuit din: film de protecție, rezervor, membrană, film adeziv, folie de protecție.

Fig.1.2. Sistemul Deponit



Sistemul Nitro-Dur, produs de firma Key Pharmaceuticals, nu are membrană de control la eliberarea principiului activ. Difuzia nitro-glicerinei prin piele depinde de concentrația

principiului activ inclus într-o matrice polimerică.

Matricea este formată din alcool polivinilic, lactoză, glicerină, polivinilpirolidonă şi citrat de sodiu. Principiul activ dizolvat este în echilibru cu fracţiunea legată chimic de polimerul matriţei. Gradientul de concentraţie permite o eliberare de 0,5 mg/cm^2/24h, deci aceeaşi ca la Transderm-Nitro.

Fig.1.3.
Sistemul Nitro-Dur

Ca şi în sistemul Nitro-Dur principiul activ în sistemul Nitro-Disc este conţinut într-o matrice, eliberarea sa nefiind controlată de o membrană. În această matrice pe bază de silicon principiul activ este dispersat în interiorul microporilor servind ca rezervor sub numele de MDD (Microsealed Drug Delivery Systems). Acesta conţine o soluţie saturată de nitroglicerină într-un amestec de PEG 400 şi apă. Din momentul aplicării, nitroglicerina difuzează traversând polimerul până la interfaţa cu pielea. În acest sistem viteza de difuzie este crescută prin incorporarea de palmitat de izopropil şi a unui ulei mineral care modifică coeficientul de partaj. Principiul activ din Nitro-Disc este dozat la 10-32 mg/unitatea eliberează 10 mg/24 h pentru concentraţia mare, adică 0,625 mg/cm^2/24 h. O treime din conţinutul total este deci eliberată cu o viteză de aproximativ 1,25 ori mai mare decât cele două sisteme descrise.

S-au făcut studii clinice care au evidenţiat corelaţia dintre Transderm-Nitro şi Nitro-Disc, ambele având o viteză de eliberare de 50μg/cm^2/h.

Clonidina este un agent antihipertensiv ce se absoarbe foarte bine din tractul gastro-intestinal (95%). Substanţă biologic activă are un timp de

înjumătățire relativ lung (6-20 h) şi un clearance modest (13 l/h). Motivul pentru care se foloseşte în sisteme transdermale este reducerea efectelor secundare.

Catapres-TTS (Boehringer-Ingelheim Pharmaceuticals) a fost lansat pe piață în 1985 într-o formă destinată eliberării medicamentului în 7 zile.Titrarea dozelor este posibilă prin utilizarea sistemelor cu arii diferite de activitate (3,5; 7 şi 10, 5 cm^2). Rezervorul şi adezivul sunt compuşi din poliizobutilenă, ulei mineral şi dioxid coloidal de siliciu. O membrană cu micropori separă rezervorul de stratul adeziv. Controlul eliberării substanței biologic active de-a lungul celor 7 zile este foarte bun, evitându-se variațiile concentrației în circulația sistemică caracteristice administrării pe cale orală. La unii pacienți s-au observat reacții imunologice.

Estradiolul. Sistemul transdermic cu estradiol este indicat ca adjuvant hormonal în menopauză. Estradiolul este eficient, are un clearance mare (600-800 l/h) şi un timp scurt de înjumătățire (0,05h). Inițial terapia hormonală avea la bază administrarea orală de estrogeni de sinteză. Datorită unei metabolizări crescute la nivelul ficatului apar cantități crescute de estronă cu efect nefavorabil. Sistemul transdermal provoacă menținerea unui nivel plasmatic eficient. S-a observat diminuarea bufeurilor de căldură, a tulburărilor de somn, a iritabilității.

Primul sistem aprobat a fost unul de tip rezervor (Estraderm TTS) al cărui activitate dura 3-4 zile. Rezervorul substanței biologic active a fost prima dată etanolul care ducea la pierderea unei cantități mari de substanță activă. Estradiolul este prezent în cantitatea necesară funcționării dispozitivului. O membrană de protecție transparentă împiedică pierderea substanței active. La nivelul pielii rezervorul de substanță activă este închis de o membrană de control făcută dintr-un polimer cu permeabilitate specifică pentru substanța activă. Aceasta controlează eliberarea principiului activ şi împiedică golirea rapidă a rezervorului în cazul în care pielea pacientei este anormal de permeabilă la estradiol.

Scanned with OKEN Scanner

Stratul adeziv este rezistent la apă, hipoalergenic şi permisiv faţă de substanţa activă.

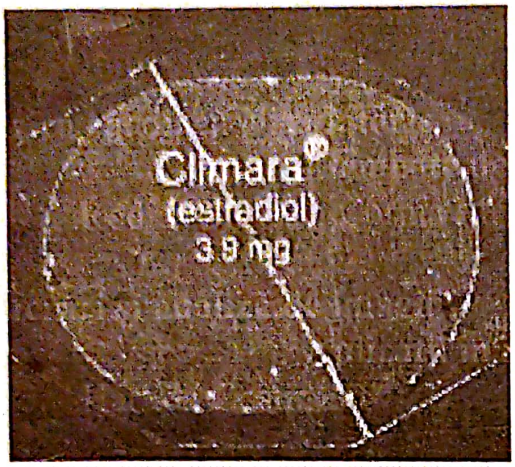


Fig.1.4.
Sistemul transdermic
Climara cu estradiol

Fig.1.5. Estraderm

Stratul de protecţie, detaşabil, neadeziv, relativ rigid, închide suprafaţa de contact înainte de folosire. Se îndepărtează în momentul aplicării. Funcţionarea acestui sistem se bazează pe permeabilitatea pielii umane la estradiol. Acesta, după ce a fost eliberat este absorbit prin difuzie pasivă moleculară, traversează pielea şi intră în circulaţia sistemică.

Cantitatea de estradiol adusă organismului depinde de mărimea şi suprafaţa de contact a sistemului. Pentru a permite o posologie individuală adaptată la cerinţe, Estraderm TTS este comercializat sub trei forme.

Folosirea sistemului ETTS face posibilă transferarea 17-beta–estradiolului direct în fluxul sangvin. Estradiolul într-o doză zilnică de 25, 50 sau 100 mg este depozitat într-un gel-etanol ca rezervor într-o bandă adezivă specială. De aici el este absorbit printr-o membrană microporoasă în plexul subcapilar şi cu o viteză constantă până la atingerea echilibrului gradientului de difuzie dintre piele şi sistem.

Sistemele *monolit* sunt mult mai bune şi, în consecinţă mai folosite.

Scanned with OKEN Scanner

În tratamentul menopauzei se foloseşte şi administrarea orală a progesteronului, de aceea s-a urmărit obținerea de sisteme transdermale în care să fie combinați ambii hormoni. Un exemplu în acest sens, deja aprobat spre vânzare în Anglia., este sistemul ce conține estradiol şi levonorgestrel. Se pare că acest sistem reduce simptomele menopauzei, dar nu repoduce modificări ale variabilelor metabolice şi ale nivelurilor hormonale (androgeni, prolactină).

Levotech Inc. a lansat pe piață un nou produs cu administrare transdermală, cu rol contraceptiv ce conține levonorgestrel (LNG) şi etinil estradiol (EE). Acesta se menține pe piele timp de 7 zile. Trei tipuri diferite de patch-uri au fost evaluate clinic pe parcursul a 5 luni, ele având dimensiuni diferite (7,5cm^2, 10cm^2, 12,5cm^2). S-au luat în studiu 85 femei.

S-a luat în calcul nivelul seric al LNG şi EE. De asemenea, s-au urmărit dimensiunea foliculilor ovarieni şi grosimea endometrului care au indicat că toate patch-urile sunt potențial similare în eficacitate ca şi pilulele orale contraceptive.

S-a observat lipsa aproape totală a efectelor secundare, a stărilor de greață sau a vomei. S-ar părea că astfel de metode vor fi mult mai agreate de către femei decât vechea pilulă, oricum, ca la orice medicament, în timp se vor vedea rezultatele.

Euro Inter Pharma propune un patch cu estradiol cu durată de aplicare de 7 zile, acesta având substanța activă într-o matrice adezivă conținând şi un modificator de permeabilitate. Este subțire şi transparent.

Vivelle-Dot™ a lansat în anul 1999, cel mai mic patch cu estradiol din lume, în patru forme de dozare (0,375; 0,5; 0,75 şi 10mg/zi).

În cazul formei celei mai prescrise (0,5mg/zi) dimensiunile sunt apropiate de cele ale unui timbru poştal. Ca arie, reprezintă aproape un sfert din aria produsului Estraderm (Novartis). Suprafața mică previne apariția iritației pielii. Conține 17β-estradiol, cu structură identică celui întâlnit în

Scanned with OKEN Scanner

organismul femeii. Prin acest sistem se eliberează estrogen continuu şi încet în organism.

Se pare că într-o pilulă se află de 20 ori mai mult estrogen decât într-un patch, acest lucru datorându-se metabolizării sale în ficat într-o cantitate mare.

Tot aceeaşi firmă propune un patch pentru tratarea simptomelor menopauzei, pentru prevenirea osteoporozei şi pentru protecţie cardio-vasculară care conţine ambii hormoni feminini (17β estradiol şi progesteron) - CombiPatch. Acest produs se recomandă femeilor care au uterul intact, nu celor care au suferit o histerectomie.

Testosteronul Formele transdermale sunt cele mai recente forme de administrare al testosteronului în caz de insuficienţă hormonală prezentă în cazul hipogonadismului primar şi al hiopogonadismului hipogonadotropic. Exemple de astfel de sisteme sunt cele produse de Alza Corporation, Testoderm, Testoderm cu adeziv şi produsul firmei Theratech, Inc., Androderm.

Sistemele sunt aplicate zilinic pentru a mima profilul endogen al testosteronului seric la bărbatul normal.

Testoderm (4mg şi 6mg) şi Testoderm cu adeziv (6mg) eliberează cantităţi controlate de testosteron în aplicaţii zilnice pe pielea scrotală. Aceste sisteme au suprafeţe de contact de ordinul a 40 sau 60cm^2, şi conţin 10 sau 15mg testosteron.

Testoderma este alcătuit dintr-un înveliş posterior flexibil, moale din polietilen-teraftalat, care susţine un film de testosteron şi copolimer de etil-vinil acetat. Posedă şi un înveliş protector care se îndepărtează înainte de aplicare.

Testoderma cu adeziv include o membrană adezivă subţire şi îngustă compusă din poliizobutilenă şi dioxid de siliciu coloidal care acoperă parţial suprafaţa filmului de substanţă biologic activă.

Scanned with OKEN Scanner

Androderma este un sistem ce conține o matrice și permite eliberarea testosteronului timp de 24 ore, însă nu este aplicat pe pielea scrotală. Un rol important în eficacitatea acestui sistem îl joacă modulatorii de permeabilitate care fac posibilă trecerea substanței active prin zone ale pielii mai puțin permeabile ca pielea scrotală. Totuși acești adjuvanți cresc semnificativ incidența iritațiilor. Aceste sisteme au un rezervor central cu substanță biologic activă, înconjurat de un adeziv periferic și sunt disponibile în doze de 2,5 mg și 5mg. Cel mai mic sistem activ are o suprafață activă de 7,5 cm^2 (aria sa totală fiind de 44,5 cm^2) și o încărcare cu substanță biologic activă de 12,2 mg. Cel mai mare patch are o suprafață activă de 15 cm^2, iar suprafața totală este de 59 cm^2, conținutul său în testosteron fiind de 24,3 mg. Rezervorul de substanță biologic activă este reprezentat de gel alcoolic ce conține testosteron, separat de piele printr-o membrană permeabilă microporoasă de polietilenă. Un strat de adeziv acrilic înconjoară sistemul.

Sistemele cu testosteron ilustrează două rezolvări parțiale ale ratei insuficiente de absorbție percutanată. În primul caz, patch-ul trebuie aplicat pe pielea cu permeabilitatea cea mai mare cum e cea scrotală (care s-a dovedit a fi de cinci ori mai mare decât în alte regiuni). În celălat caz dificultatea este rezolvată prin formularea adecvată a patch-ului, prin adăugarea de modulatori ai permeației care să reducă funcția de barieră a pielii. Nici una dintre soluțiile prezentate nu este ideală: aplicarea scrotală nu este prea agreată de pacient, iar acești modulatori ai permeației, prin natura lor duc la iritații ale pielii.

Fentanilul Acest medicament era limitat la utilizarea sa doar pe cale parenterală în timpul și după operațiile chirurgicale. Este necesară o dozare strictă a sa datorită concetrației sale terapeutice mici (1-2 ng/ml). Datorită capacității sale mărite de a diminua durerile acute postoperatorii sau cele din cancerele avansate au dus la apariția sistemului transdermal Duragesic produs de firma Janssen. Acest sistem poate fi folosit mai mult de trei zile și se găsește în patru forme de dozare: 10, 20, 30 și 40 cm^2 cu 25, 50, 75 și 100

Scanned with OKEN Scanner

µg/h. Rezervorul sistemului Duragesic conţine fentanil dizolvat în alcool şi gel de hidroxietil celuloză care este separat de stratul adeziv siliconat printr-o membrană din copolimer de etilen vinil acetat ce controlează rata eliberării medicamentului.

Nicotina Patch-urile cu nicotină sunt folosite ca terapie în tabagismul cronic. Se consideră că nicotina este principalul component al tutunului. Sistemele transdermale nu sunt singurele utilizate în tratamentul împotriva tabagismului, fiind folosite şi alte sisteme ce au la bază nicotina (gumă de mestecat, pastile, spray-uri nazale). Nicotina are un timp de înjumătăţire relativ scurt (2 h) şi un clearance mare (78 l / h), ceea ce înseamnă că, de exemplu pentru atingerea unei concentraţii plasmatice echivalente cu cea a fumării unei ţigări pe oră este necesară mestecarea continuă a 10 gume pe zi.

Sistemele transdermale au fost proiectate să menţină o concentraţie constantă timp de 24 ore sau 16 ore. Iată câteva exemple de patch-uri aflate la ora actuală pe piaţă: Nicotrol (Parke-Davis), Nicoderm (Marion Merrel Dow), Prostep (Lederle) şi Habitrol (Ciba-Geigy) care sunt bioechivalente din punct de vedere farmacocinetic.

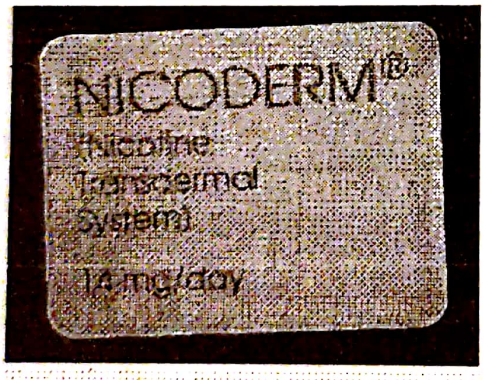


Fig.1.6. Nicoderm

Există însă şi diferenţe, de exemplu, gradul de iritare al pielii; se pare că Nicotrolul produce o iritaţie mai mică decât alte sisteme. Aceasta este legată într-o anumită măsură de activitatea termodinamică relativă a nicotinei în diferite sisteme. Încărcarea cu substanţă biologic activă variază şi ea. Eficacitatea lor pe termen scurt a fost demonstrată de scăderea simptomelor specifice abstinenţei.

Studiile pe termen mai lung au demonstrat că patch-urile pot fi eficiente, însă necesită şi un tratament psihologic şi o motivaţie puternică astfel că

Scanned with OKEN Scanner

pacientul să nu mai aibă tendinaţa de a se reîntoarce la fumat. Recent, în multe ţări aceste patch-uri se eliberează fără prescripţie medicală.

Tabel 1.2.

Sisteme transdermale cu nicotină

Substanţă biologic activă	Nicotrol	Nicoderm	Habitrol	Prostep
Suprafaţa (cm^2)	30	22	30	32/ 7 (total / activă)
Conţinut total (mg)	24,9	114	52,5	30
Conţinut pe suprafaţă (mg / cm^2)	0,83	5,18	1,75	4,28
Rata eliberării nicotinei (µg / cm^2)	31	40	29	130
Cantitatea absorbită (mg)	14,2 (la 16 ore)	20,9	20,6	21,5
Clearance maxim (ng / ml)	13±2	23±5	17±2	16±6
Cantitatea reziduală (mg)	10	83	32	8
Procentul eliberat	60 (la 16 ore)	27	39	73

Alt tip de patch cu nicotină este OTC Nicotine produs de firma Mark Tucker. Acest sistem eliberează 15 mg de nicotină la 16ore. Există însă şi forme care eliberează 7mg, 14mg şi 21mg în 24ore. Sunt bioechivalente cu produsele mai vechi apărute pe piaţă. Aria sa activă reprezintă aproximativ 33% din cea totală.

Scanned with OKEN Scanner

În stadiu de cercetare de laborator se află şi alte substanţe dintre care: timolol, propranolol insulina, prostaglandine.

Recent, Transdermal Technologies Inc. a anunţat obţinerea unei noi formule în eliberarea medicamentelor pe cale transdermală. Aceasta nu implică folosirea unui patch propriu zis ci se foloseşte un vehicul lichid care este aplicat direct pe piele şi în care se află şi substanţa activă. Medicamentul este eliberat rapid şi într-o doză suficientă pentru a atinge pragul terapeutic, fiind echivalent cu a şaptea sau a zecea parte dintr-o doză orală.

Astfel s-a reuşit eliberarea unor molecule de diferite mărimi, chiar şi a morfinei, care se considera a fi imposibil de administrat pe cale transdermală. Cu acest tip de formulare, medicamentul traversează pielea fără să provoace iritaţii. Se poate modifica doza funcţie de locul aplicării sau de absorbţia sistemică a substanţei biologic active.

Firma Noven propune un produs numit DentiPatch care poate fi aplicat înaintea administrării unei injecţii în cazul unui tratament stomatologic pentru a amorţi zona şi pentru a elimina durerea dată de înţepătură.

S-a obţinut un patch care se poate aplica în tratarea bolii Parkinson. Conţine un agonist de dopamină N–0923 (amino tetralin D2 dopamină). Eliberează cantităţi constante de substanţă biologic activă în sistemul sanguin la 24-36 ore. Acest sistem este prezentat de Discovery Therapeutics, Inc.

Alt domeniu în care s-a încercat obţinerea de patch-uri este cel al diabeticilor insulino-dependenţi. A. Sintov şi U. Wormser, de la Institutul pentru Cercetări Aplicate din Geneva, au încercat să inactiveze anumiţi compuşi ai straturilor superioare ale pielii. Acest lucru l-au făcut prin tratarea pielii anterior aplicării insulinei. Experienţele s-au făcut doar pe şobolani, neexistând încă o testare clinică. Tot în acelaşi domeniu SoniCom Watch a obţinut rezultate satisfăcătoare prin combinarea sistemului transdermal cu ultrasunetele. Eliberarea insulinei este strict monitorizată, sistemul utilizat având şi senzori de controlare a concentraţiei ei în sânge.

Scanned with OKEN Scanner

1.3. Factori care determină transportul percutanat al principiilor active

Există anumiți factori care influențează transportul medicamentelor prin piele în circulația sistemică, factori ce depind de proprietățile fizico-chimice ale medicamentelor, proprietățile intrinseci ale pielii, interacțiunile dintre piele, substanța activă și excipienți. Cu alte cuvinte transportul prin piele se supune unor legi ale absorbției, difuziei etc.

Dintre factorii care influențează absorbția medicamentelor prin piele menționăm:

- locul de aplicare;
- grosimea și integritatea stratului cornos al pielii;
- mărimea moleculei substanței aplicate pe piele;
- permeabilitatea membranei ce intră în alcătuirea SDC transdermal;
- starea de hidratare a pielii;
- pH-ul medicamentului;
- metabolizarea medicamentului de către flora microbiană de la nivelul
- pielii;
- liposolubilitatea;
- concentrația medicamentului în piele;
- alterarea debitului sangvin din piele de către excipienți;
- temperatura

Absorbția implică trecerea medicamentelor de la locul de administrare, respectiv pielea, în sânge. Urmează apoi distribuția care implică eliberarea lor în țesuturi. Ajungerea la locul de acțiune necesită traversarea a numeroase membrane și bariere biologice care în marea lor majoritate au o structură lipidică.

Absorbția, legarea de proteinele plasmatice, depozitarea tisulară, biotransformarea și eliminarea determină în final cantitatea de medicament disponibilă interacțiunii cu sistemul biologic țintă și generarea efectului farmacodinamic.

Scanned with OKEN Scanner

Transportul medicamentelor prin piele este un proces de difuzie.

Experimentele de difuzie prin piele au dus la determinarea coeficientului de permeabilitate al medicamentelor (Papp), apoi al coeficientului de difuzie (D):

$$\mathbf{Papp=D \cdot K/h}$$

unde: K este coeficientul de partiție, iar h grosimea pielii.

Studii sistematice au dus la determinarea coeficientului de permeabilitate prin piele al mai multor medicamente (stratul cornos şi derm). Acestea au demonstrat că stratul cornos reprezintă principala barieră în transportul medicamentelor, importanța partiției şi difuziei în procesele de transport, variabilitatea lor pentru fiecare medicament în parte, precum şi faptul că pielea este impermeabilă pentru majoritatea medicamentelor.

Organismele superioare sunt constituite dintr-un sistem multicompartimentat. Compartimentele în care medicamentul circulă, acționează şi se transformă sunt separate prin membrane; traversarea membranelor reprezintă un proces cheie, determinant pentru întreg cicul farmacocinetic.

Absorbția implică trecerea medicamentelor de la locul de administrare în sânge, iar distribuția implică eliberarea lor în țesuturi. Ajungerea la locul de acțiune necesită traversarea membranelor biologice care, în marea lor majoritate au structură lipidică.

Proprietățile fizico-chimice ale medicamentelor, esențiale pentru procesul de traversare a membranelor sunt: dimensiunile moleculelor, solubilitatea, gradul de ionizare şi coeficientul de partaj lipide-apă. Potențialul de trecere prin membrane este frecvent exprimat prin *coeficientul de partaj lipide-apă,* care este raportul concentrației medicamentului în două faze nemiscibile: o grăsime nepolară (ulei) sau un solvent organic (heptan, octanol), reprezentând plasma. Coeficientul de partaj poate fi considerat ca o

măsură a afinității relative a substanței medicamentoase față de faza lipidică și faza apoasă.

1.4. Mecanisme de traversare a membranelor biologice

Există mai multe tipuri de traversare a membranelor biologice:

- difuzie (neelectroliți, acizi slabi, baze slabe);
- filtrare;
- transportul activ (și facilitat);
- transportul prin ioni-pereche;
- pinocitoză.

Membranele biologice sunt capabile de schimbări rapide localizate, în sensul că geometria lor relativă (prin proteinele specifice) este modificată formând deschizături sau pori apoși. Prezența porilor face ca membrana să fie puțin restrictivă față de penetrarea în celulă a moleculelor cu greutate moleculară mică.

Difuzia este un proces de natură fizică, pasiv (fără consum de energie) și se produce numai în sensul gradientului de concentrație, respectiv gradientului electrochimic. *Difuzia simplă* reprezintă viteza cu care o particulă poate trece prin membrana celulară (viteza de difuzie = Ps) este invers proporțională cu grosimea membranei (m) și direct proporțională cu coeficientul de difuzie al substanței respective (Ds):

$$\mathbf{Ps=Ds/m}$$

La rândul său, *coeficientul de difuzie* este direct proporțional cu: temperatura, solubilitatea substanței în mediile traversate, greutatea sa moleculară, configurația spațială a moleculei (moleculele asimetrice se deplasează cu dificultate), natura substanței și numărul de legături cu mediul părăsit, starea de hidratare etc. Intervenția gradului de solubilitate (hidrofilie, lipofilie) al substanței ce traversează membrana este exprimat de valoarea

Scanned with OKEN Scanner

coeficientului de partaj lipide/apă (K), reprezentat de raportul la echilibru dintre concentraţiile unei substanţe în doi solvenţi nemiscibili aflaţi în contact:

$$K = C1/C2$$

Unele narcotice liposolubile pătrund rapid în celule datorită coeficientului de partaj favorabil traversării membranei.

Difuzia simplă se realizează datorită unor gradiente fizice de concentraţie sau electrice. Inegalitatea de concentraţie între două compartimente (C_0 şi C_i) generează o energie de concentraţie (E_c) conform relaţiei:

$$E_c = RT \ln C_i / C_0$$

Această energie propulsează moleculele de solvit dinspre compartimentul cu concentraţie mare spre cel cu concentraţie joasă. În mod similar, gradientul electric (diferenţa de potenţial determinată de repartiţia inegală a unor particule încărcate = E_m) generează o energie electrică (E_e) conform relaţiei:

$$E_e = Z F Em$$

unde: Z este numărul atomic şi F este numărul lui Faraday.

Cele două energii sumate (E_c şi E_e) reprezintă o energie potenţială, denumită potenţial electrochimic al substanţei respective. La echilibru, potenţialele electrochimice ale celor două compartimente (intra- şi extracelular) sunt egale. Această relaţie creează posibilitatea realizării echilibrului în condiţiile unei diferenţe de concentraţie compensate corespunzător de o diferenţă de potenţial.

Majoritatea medicamentelor sunt electroliţi organici slabi, soluţiile lor apoase fiind un amestec de ioni şi molecule neionizate. Fracţiunea ionizată este lipofobă şi nu difuzează prin structura lipidică a membranei, în timp ce

Scanned with OKEN Scanner

fracţiunea neionizată, lipofilă, difuzează prin membrane în funcţie de mărimea coeficientului de partaj lipide-apă.

Cu ajutorul ecuaţiilor Henderson – Hasselbach se poate calcula proporţia de molecule nedisociate, liposolubile, deci se poate aprecia efectul pH-ului local asupra absorbţiei substanţelor medicamentoase.

Relaţiile Henderson-Hasselbach sunt:

- pentru un acid slab: $\mathbf{pKa - pH = \log C_n/C_i}$
- pentru o bază slabă: $\mathbf{pH - pKa = \log C_n/C_i}$

unde: C_n reprezintă concentraţia molară a substanţei neionizate, iar C_i reprezintă concentraţia molară a substanţei ionizate.

Când pKa-ul substanţei este egal cu pH-ul mediului, numărul de molecule nedisociate este egal cu cel al moleculelor disociate (50% ionizate, 50% neionizate). Majoritatea medicamentelor (acizi sau baze organice) au pKa cuprins între 3 şi 10, care la valori mijlocii ale pH-ului prezintă suficiente molecule neionizate, pentru a putea traversa bariera lipidică a membranelor în funcţie de valoarea coeficientului de partaj lipide/apă.

Un pH alcalin, pentru medicamentele acide şi un pH acid pentru cele bazice, creşte proporţia formei ionizate şi în consecinţă conduce la scaderea absorbţiei.

Electroliţii tari, care disociază complet în soluţie apoasă, fiind lipofobi, nu se pot practic absorbi prin difuzie (acizi sulfonici,baze cuaternare de amoniu).

Filtrarea constă în trecerea prin porii membranei sau canalele apoase ale substanţelor hidrosolubile; are caracteristicile difuziei şi presupune un flux al apei datorită diferenţei de presiune hidrostatică sau osmotică.

Diametrul mic al porilor (7-8Å) limitează filtrarea la molecule organice mici (masă moleculară sub 200) şi la unii ioni anorganici (Na, K, Cl etc.)

Moleculele mai mari pot filtra la nivelul porilor capilarelor, care au un diametru mai mare (60-80Å), factorul limitant fiind în acest caz legarea

Scanned with OKEN Scanner

medicamentelor de proteinele plasmatice (macromoleculele nu trec în mod obişnuit prin porii capilarelor).

Transportul activ este un proces de natură biochimică, se face cu consum de energie, necesită prezenţa unui sistem transportor şi funcţionează în sens contrar gradientului electrochimic. Molecula substanţei medicamentoase este preluată de o parte a membranei şi cedată de cealaltă parte, transportorul circulând sub formă legată într-o direcţie şi liber în cealaltă, în cadrul unui proces ciclic.

Transportorul, reprezentat adesea de o polipeptidă, se caracterizează printr-un maxim de transport în unitatea de timp, corespunzător saturării locurilor de legare. Compuşii chimici sau condiţiile care inhibă formarea de energie (fluoruri, cianuri, ion acetat, anaerobioză) pot încetini sau bloca transportul activ. Transportul unei substanţe mai poate fi inhibat competitiv prin coadministrarea altei substanţe cu structură suficient de apropiată pentru a fi competitivă pentru locurile de legare a proteinei transportoare.

Difuzia facilitată foloseşte sisteme transportoare specifice, dar se face numai în sensul gradientului de concentraţie sau electrochimic şi fără consum de energie. Beneficiază de o viteză de transfer transmembranar mult crescută faţă de difuzia simplă, în care coeficientul de partaj al substanţelor hidrosolubile separate este nefavorabil. Prezenţa unor transportori specifici în structura membranei aduce valorile transportului pasiv unidirecţional în limite funcţional necesare. Molecula de transportat se fixează pe extremitatea "cis" a proteinei, apoi urmează etapa de transport propriu-zisă, în care prin ţesuturi repetate se produce deplasarea glucozei din interiorul transportorului spre faţa opusă "trans", unde este eliberată în mediu. În cazul în care concentraţia glucozei de pe faţa "trans" este redusă, transportorul neîncărcat revine la faţa "cis" pentru fixarea unei noi molecule.

Modelele acceptate în prezent pentru transportori sugerează existenţa unei structuri canaliculare.

Scanned with OKEN Scanner

Transportul prin ioni-pereche este o modalitate de traversare a membranelor de către unii compuşi puternic ionizaţi (acizi sulfonic, săruri cuaternare de amoniu) şi explică absorbţia unor cantităţi mici, din tubul digestiv, pentru aceste substanţe. Medicamentele puternic ionizate se combină reversibil cu unii compuşi endogeni, cum ar fi mucina in lumenul intestinal, formând complecşi de tip ioni-pereche neutri, care traversează membrana lipidică prin difuzie.

Pinocitoza este o altă modalitate de transport activ, care constă în înglobarea de către celule a unor picături ce conţin substanţa dizolvată. Picătura este înconjurată de o porţiune din membrană formând o veziculă care apoi se detaşează în citoplasmă şi este eliberată de partea cealaltă a membranei. Această modalitate de transport este relativ rar întâlnită în cazul medicamentelor. Pot beneficia de acest tip de transport: lipidele, glicerina, amidonul, vitaminele liposolubile (A, D, E, K), feritina şi insulina, acestea din urmă la copiii mici.

Medicamentele pot fi absorbite prin mai multe mecanismeca de exemplu: vitamina B12 se absoarbe prin transport facilitat şi prin difuzie pasivă, glicozidele tonicardiace se absorb parţial prin transport activ şi parţial prin difuzie pasivă. Principiile active cu molecule mici se absorb prin difuzie şi prin filtrare.

La nivelul diferitelor organe şi ţesuturi sunt disponibile mai multe mecanisme de traversare. Astfel, în cavitatea bucală - difuzia şi filtrarea; în stomac - difuzia pasivă, filtrarea şi, probabil transportul activ; în intestinul subţire-toate tipurile de traversare; în intestinul gros şi rect-difuzia, filtrarea şi pinocitoza. Traversarea prin tegumente se face numai prin difuzie şi probabil prin filtrare (pentru moleculele mici).

Absorbţia depinde de caracterisiticile formei farmaceutice, proprietăţile fizico-chimice ale substanţei active, concentraţia substanţei şi vascularizaţia la locul absorbţie.

Scanned with OKEN Scanner

2. Pielea ca barieră şi organ imunologic

Pielea reprezintă graniţa dintre corp şi lumea exterioară, ea este organul de apărare a corpului împotriva microorganismelor, a substanţelor vătămătoare, a acţiunilor mecanice şi în acelaşi timp este regulatorul temperaturii; este organ de secreţie şi excreţie, are rol sensitiv faţă de temperatură şi funcţie tactilă. Funcţiile pielii îi determină structura anatomică, care este pronunţat variabilă în diferitele sale regiuni topografice şi mai ales dependentă de specia animală, de condiţiile de viaţă şi de mediu.

Pentru a-şi îndeplini funcţiile variate pe care le are faţă de organism, pielea are o structură anatomică complexă, diferită de la specie la specie sau în cadrul aceleiaşi specii de animale în funcţie de condiţiile de viaţă, de mediu geografic, sex, vârstă etc. Variabilitatea de structură este evidentă şi în diferitele zone topografice ale aceleiaşi piei.

Pielea umană reprezintă cel mai extins organ al corpului, aria suprafeţei sale aparente, la omul adult, excepând cutele majore, este de 1,2 – 2,0 m^2, atingând greutatea de aproximativ a 12-a paret din greutatea corpului. Pielea variază în grosime de la aproximativ 1,5mm la 4mm şi este compusă din trei straturi: *epiteliu (epiderma), matrice conjunctivă (derma) şi ţesut grăsos (hipoderma).*

În pielea umană, epiderma are o grosime cuprinsă în intervalul 30-1000µm iar derma, irigată de o reţea capilară, are o grosime de 800-2500µm.

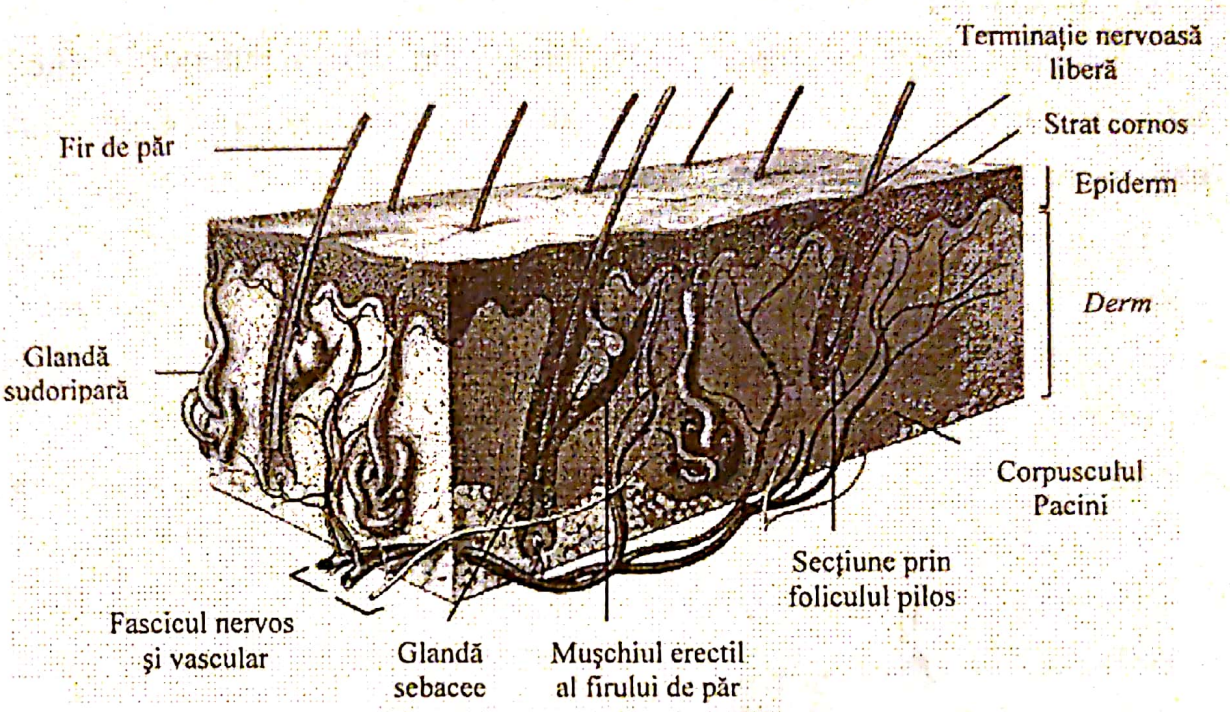
Reţeaua capilară sanguină se regăseşte exclusiv în dermă, nutrienţii pentru epidermă migrează numai prin difuzie.

Sistemele transdermale pot fi definite ca eliberatoare de principii active în circulaţia sistemică, prin pielea intactă, în cantităţi suficiente pentru realizarea şi menţinerea concentarţiei terapeutice.

Pielea intactă reprezintă pentru compuşii chimici unul dintre cele mai impermeabile ţesuturi ale corpului. Această proprietate se datoreşte în principal stratului cornos al epidermei .

Scanned with OKEN Scanner

Fig.2.1. Reprezentarea schematică a unei secțiuni prin piele



Epiderma este un epiteliu stratificat, format exclusiv din celule, lipsit de vase sanguine şi despărțit de derma pe care se sprijină printr-o membrană bazală. Epiderma reprezintă 1-5% din grosimea pielii, la cele mai multe animale. Aceasta poate fi divizată în două straturi distincte: un strat profund, constituit din celule ale căror nuclee se pot colora intens, reprezentând partea cea mai groasă, care prin macerare îndelungată se transformă într-o masă cu aspect mucilaginos, numit *corpul mucos* şi alt strat superficial, mai subțire, transparent şi uscat, format din celule cu aspect de solzi, lipsite de nuclee, numit *stratul cornos.* La stratul cornos, considerând sensul de succesiune dinspre dermă, se disting: *stratul lucios, stratul cornos propriu-zis şi stratul exfoliator* (figura 2.2.).

Stratul lucios este format din mai multe rânduri de celule turtite, translucide, în care nucleii sunt aproape invizibili. În celulele de la partea superioară a stratului lucios, cheratohialina s-a transformat într-o substanță

uleioasă, numită elaidină. Epitelio-fibrilele intercelulare, care caracterizează încă stratul granulos au dispărut şi stratul apare clar şi refringent, de unde îi vine şi numele de strat lucios.

Stratul cornos propriu-zis este format din celule puternic turtite. În interiorul acestor celule se găseşte o substanţă grasă, grăsimea epidermică, care probabil este o paraelaidină, iar nucleele au dispărut complet.

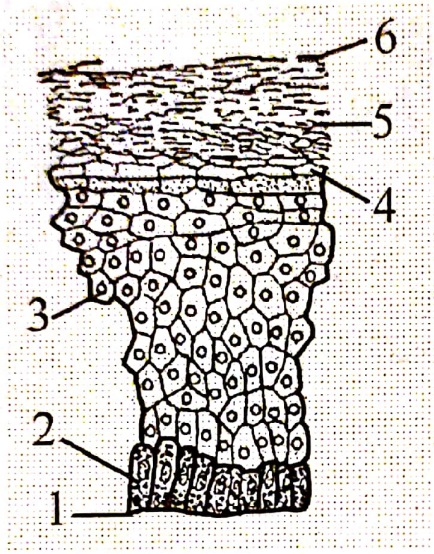


Fig.2.2. Reprezentarea schematică a structurii histologice a epidermei. 1.Membrana hialină; 2. stratul bazal; 3.stratul spinos; 4.stratul granulos; 5.stratul cornos propriu-zis; 6.stratul exfoliator.

Epiderma este cheratinizată continuu, pe întreaga suprafaţă corporală, în condiţii fiziologice. Variaţiile regionale în grosime sunt date de cele ale stratului cornos, care este mai gros în zonele expuse acţiunilor mecanice cum sunt palmele sau tălpile. Stratul cornos este numit adeseori şi "zid de cărămidă", este alcătuit din 15-25 straturi celulare pe majoritatea suprafeţei corporale şi are o grosime de 0,01mm, fiind mai gros în palme şi călcâie. Fiecare celulă (corneocitul) are o grosime de aproximativ 0,5μm şi o lăţime de 30-40μm, cea mai lată celulă din epiderm. Celulele sunt aplatizate, dispuse paralel cu suprafaţa epidermaui. Citoplasma lor este încăracată cu cheratină, holoproteină fibroasă. Nucleii nu există, locul ocupat de către aceştia apărând optic vid, iar organitele celulare lipsesc.

În citoplasma celulelor cheratinizate se constituie o structură cunoscută sub numele de complex filament-matrice. Acest complex este format din filamente dispuse compact sub forma unor structuri octogonale, paralele cu

suprafața epidermaui, înglobate într-o matrice interfibrilară. Componenta fibrilară, care asigură flexibilitatea şi elasticitatea celulelor cornoase este rezultatul sintezei proteice de la nivelul celulelor straturilor profunde, în timp ce componenta amorfă derivă din granulele de cheratohialină, fiind responsabilă de rezistența chimică a stratului cornos.

Citoplasma celulelor din acest strat conține cheratină cu masă moleculară înaltă. Aceste celule au un conținut scăzut în apă, putând absorbi o cantitate de trei ori mai mare decât greutatea proprie. Spațiul intercelular este bogat în lipide organizate în două straturi, aproximativ 14% din greutatea stratului cornos o reprezintă lipidele. O caracteristică a lipidelor intercelulare este că, în contrast cu alte biomembrane, nu conține fosfolipide, ci o mixtură aproximativ echimolară de ceramide, colesterol şi acizi graşi liberi.

Derma sau corionul reprezintă un suport funcțional atât pentru creşterea cât şi pentru maturarea şi diferențierea epidermaui. Este o structură conjunctivă ce conține vase sangvine şi limfatice, nervi şi terminații nervoase. Se disting: stratul superficial sau papilar şi un strat profund sau reticular.

Stratul papilar este reprezentat printr-un țesut conjunctiv tânăr, puternic reactiv, cu structură de conjunctiv lax, cu fibre colagene de tip III (fibre de reticulină) şi mai puțin de tip I, subțiri, dublate de fibre elastice, grupate în jurul vaselor şi a anexelor cutanate.

Derma reticular este format dintr-un țesut conjunctiv dens, cu fibre şi fascicule de colagen groase, tip I şi mai puțin tip III, aparent neregulat ordonate şi numeroase fibre elastice ce alcătuiesc o rețea. Elementele celulare sunt relativ rare reprezentate de fibrocite şi adipocite. Substanța fundamentală conține acid hialuronic, condroitin sulfați şi dermatan sulfați. Acest derm profund este format din țesut conjunctiv adult, stabil metabolic şi slab reactiv reprezentând structura de rezistență a tegumentului. Derma profund se continuă fără o delimitare precisă cu hipoderma.

Scanned with OKEN Scanner

Colagenul este principala proteină fibroasă a dermaui reprezentând mai mult de 70% din masa uscată a acestui strat, în timp ce elastina reprezintă doar 2%, ea dă pielii capacitatea de refacere după deformările mecanice pe care le suferă. Alte componente nefibroase ale dermaui sunt glicozaminoglicanii şi glicoproteinele.

Din punctul de vedere al absorbţiei şi eliberării transdermale a medicamentelor, poate că cel mai important element component al dermaui îl reprezintă reţeaua vasculară sangvină pentru că toate substanţele absorbite sunt distribuite în organism pe această cale.

Sângele din vasele pielii provine din ramurile cutanate ale muşchilor scheletici care străbat grăsimea subcutanată şi apoi intră în derm. În regiunile mai adânci ale dermaui ramurile se distribuie orizontal pentru a forma un plex vascular. În acelaşi timp vasele mai mari urcă spre papilele dermice şi se divid în arteriole mici care formează plexurile superficiale ce merg paralel cu suprafaţa pielii. Din aceste plexuri superficiale rezultă alte arteriole mai mici care dau naştere la reţeaua capilară ce traversează papilele dermice. Aceste vase apar ca nişte arcade în trei dimensiuni şi sevesc drept locuri de pătrundere pentru diverse substanţe. Ele sunt cele mai apropiate de suprafaţa externă a pielii, faţă de membrana bazală ele aflându-se la o distanţă de 10 până la 20μ.

Ritmul de difuzie a moleculelor de apă prin membrana capilară este de aproape 40 ori mai mare decât acela al deplasării plasmei de-a lungul capilarului. Datorită acestui fapt, apa din plasmă este schimbată cu lichidul interstiţial în intervalul scurt de deplasare a sângeluil prin reţeaua capilară. O dată cu apa străbat membrana capilară, în proporţie diferită, substanţele lipo- şi hidrosolubile cu greutatea moleculară sub 5000 daltoni.

Dacă am nota cu 1 permeabilitatea porilor capilari pentru apă, a cărei greutate moleculară este 18, atunci trecerea prin membrană a glucozei, cu greutatea moleculară de 180, ar reprezenta 0,6 din valoarea primei, iar a ceea a inulinei, cu greutatea moleculară de 5000, doar 0,2. În cazul albuminei, cu

Scanned with OKEN Scanner

greutatea moleculară de 690000, permeabilitatea capilară fiind sub 0,0001 justifică incapacitatea macromoleculelor proteice de a trece din sânge în plasma interstițială.

Aceste considerații au fost menționate pentru a se putea face o estimare a capacității pielii de absorbi diferite substanțe și de ale transporta prin intermediul capilarelor ei în diferite locuri din organism.

Pielea constitue un înveliș impermeabil care limitează pierderile de apă din organism dar și o membrană semipermeabilă, fragilă, permițând intarea selectivă a unor substanțe chimice și reținerea altora la suprafață. Pentru substanțele care sunt ușor absorbite de către piele factorul limitator al fluxului este grosimea și nu permeabilitatea epidermei.

Căile absorbției percutanate sunt reprezentate de stratul cornos, foliculul pilo-sebaceu și ductul sudoripar. Studii recente arată faptul că principala cale de absorbție percutanată a substanțelor chimice este difuzia pasivă prin stratul cornos, foliculii pilo-sebacei și ducturile sudoripare joacând un rol minor.

Factorii care influențează absorbția percutanată sunt reprezentați de creșterea temperaturii cutanate și de hidratarea pielii.

Lipidele și substanțele liposolubile trec mai ușor, în timp ce substanțele organice cu grupări hidrofile se absorb mai încet. Moleculele mici, solubile atât în lipide cât și în apă, sunt cele mai ușor absorbite. Variațiile regionale ale permeabilității cutanate pot fi în general explicate prin grosimea diferită a stratului cornos.

Pielea atinsă de dermatoze sau supusă acțiunii unor chimicale (solvenți, denaturanți, surfactanți) este mult mai permeabilă decât pielea intactă. Pansamentele oclusive, prin creșterea hidratării și a temperaturii cutanate, duc de asemenea la creșterea absorbției unor substanțe.

Scanned with OKEN Scanner

2.1. Funcţia de apărare a pielii

Pielea îndeplineşte un rol important nu doar în protecţia organismului faţă de diverşi factori din mediul extern: mecanici, fizici, chimic, biotici, ci şi la realizarea funcţiei complexe de apărare. La aceasta contribuie următoarele elemente: integritatea structurală a tegumentelor; prezenţa stratului cornos, realizând protecţia faţă de factori mecanici şi fizici (radiaţiile UV) şi descuamarea continuă a porţiunii superficiale a acestuia, producând îndepărtarea mecanică a substanţelor chimice, microbilor, fungilor, virusurilor etc. şi realizarea "filmului hidrolipidic superficial" şi a "mantalei acide " a pielii.

Filmul hidrolipidic superficial este pelicula lichidiană care acoperă suprafaţa pielii, formată prin emulsionarea componentelor lipidice şi apoase. Substanţele lipidice reprezintă 20-30% din această peliculă, fiind un amestec de acizi graşi liberi, steroli, mono-, di- şi trigliceride, esterii sterolici, fosfolipide, ceruri. Din aceste lipide de suprafaţă, 95% sunt produse prin secreţia sebacee şi 5% sunt de provenienţă epidermică.

Secreţia sudorală furnizează cea mai mare parte din apa de suprafaţă, electroliţi, acizi (uric, lactic, formic, citric).

Filmul hidrolipidic superficial are următoarele roluri: lubrifiază suprafaţa pielii, făcând-o flexibilă şi rezistentă la acţiunea factorilor fizici şi chimici; controlează evaporarea apei, menţinând constantă componenta hidrică a stratului cornos şi prezintă acţiune antimicrobiană şi antifungică. Mantaua acidă a pielii este reprezentată de mediul acid de la suprafaţă, pH-ul fiind între 4 şi 7, cu excepţia pliurilor unde aciditatea este mai scăzută. Stratul lucios este foarte acid, constituind rezerva acidă a pielii.

Factorii care menţin constantă aciditatea cutanată sunt: secreţia sudorală şi secreţia sebacee (prin conţinutul în acizi graşi); disocierea subsatnţelor hidrosolubile de la suprafaţa pielii şi eliminarea la acest nivel a acidului carbonic provenit din metabolismul straturilor profunde.

Scanned with OKEN Scanner

Mantaua acidă îndeplineşte următoarele funcţii:

- acţiune antimicrobiană;
- acţiune de neutralizare a bazelor şi acizilor prin sisteme tampon foarte labile.

Un alt element care contribuie la realizarea funcţiei de apărare a pielii este structura dermaui (celule, fibre şi matrice intercelulară) care o face să fie mecano-rezistentă.

2.2. Funcţia imunologică a pielii

Deşi a fost considerată mult timp doar o barieră de tip mecanic faţă de mediul înconjurător, pielea are un rol dinamic în apărare, lucru demonstrat deja. Ea posedă aşa numitul SIS (Skin Immune System) care intervine în reacţiile de hipersensibilitate.

Componentele SIS sunt limfocitele T, celulele dendritice prezentatoare de antigen, mastocitele, macrofagele tisulare, granulocitele neutrofile, cheratinocitele.

Limfocitele T circulante, celule al căror număr nu se ştie încă, se infiltrează în pielea sănătoasă, devenind rezistente pentru o perioadă nedeterminată. Ele sunt localizate de preferinţă în jurul şi deasupra plexurilor venoase superficiale, fiind rare în epiderm. Fenotipul histochimic al limfocitelor T din pielea normală arată CD4 şi CD8 în raport de 0,97.

Celulele dendritice prezentatoare de antigen constituie de celule HLA-DR pozitive ca şi monocitele/ macrofagele, de care se deosebesc printr-o capacitate limitată de fagocitare. Dintre acestea fac parte: celula Langerhans, celula dendritică nedeterminată, celula cu văl, celula interdigitală, celula reticulară dendritică, celula Granstein.

Celula Langerhans (CL) este probabil cea mai importantă celulă implicată în răspunsul imun cutanat. Ea poate fi pusă în evidenţă fie cu clorură de aur, fie prin microscopie electronică, cu ajutorul anticorpilor

Scanned with OKEN Scanner

monoclonali şi policlonali. Celula Langerhans (CL) este o celulă imunocompetentă a epidermaui implicată în inducerea activării autologe şi alogene a celulelor T, hipersensibiltatea de contact, rejetul grefelor cutanate etc.

Capacitatea CL de a juca rolul de celulă prezentatoare de antigen limfocitelor T este bine stabilită. De asemenea, produce interleukină-1 (IL-1) şi prostaglandină D2. Aceasta din urmă serveşte ca mediator între activităţile reglatorii ale sistemului imun şi activităţile antiinflamatorii şi antiproliferative. Iradierea cu raze UV determină o diminuare a numărului CL din epiderm. Ele pot fi intoxicate cu HIV.

Celula dendritică nedeterminată este o celulă dendritică epidermică lipsită de granule Birbeck, melanozomi şi granule Merkel. Este HLA-DR pozitivă şi prezintă receptori pentru fragmentul Fc al Ig C şi pentru C3. Celule asemănătoare au fost identificate recent în derma papilar normal, perivascular, exprimând CD1a şi CD 1. S-au constatat şi forme de tranziţie între celulele dendritice nedeterminate dermice şi CL epidermice. Aceste date sugerează că celulele dendritice nedeterminate sunt precursori ai Cl.

Celula cu văl poate fi găsită în limfa aferentă care drenează pielea, fiind varianta intralimfatică a celulelor dendritice ale SIS. Ea derivă din CL şi/sau celula dendritică nedeterminată.

Mastocitele sunt celule cu granulaţii metacromatice intracitoplasmatice, care conţin amine vasoactive. Sunt descrise două tipuri: tipul I, mucos, de talie mică, şi tipul II, conjunctiv dermic. Mastocitele au rol în reacţiile de hipersensibilitate de tip imediat, posedând pe membrana lor receptori pentru fragmentul Fc şi IgE. Fixarea antigenelor specifice de către IgE duce la degranularea mastocitelor, cu eliberarea mediatorilor chimici vasoactivi determinând creşterea permeabilităţii peretelui vascular.

Derma papilară şi reticulară al pielii normale conţine monocite/ macrofage încă necuantificate. Rolul acestor celule este de fagocitare a resturilor şi substanţelor în continuă formare din celulele degradate.

Scanned with OKEN Scanner

Granulocitele neutrofile ajung la nivelul pielii după un sejur mediu intravascular de 10 ore. Soarta acestor celule care intră în țesuturi nu este clarificată.

Cheratinocitele participă activ ca celule imunocompetente și sunt capabile să secrete mediatori care modulează reacțiile imunitare și inflamatorii. Citokinele produse de celulele epidermice sunt de tipul interleukinelor (IL-1, IL-3, IL-6, IL-8), interferonilor, factorilor de creștere, citotoxinelor și factorilor subpresori.

2.3. Rolul lipidelor în funcția de barieră a pielii

Așa cum s-a arătat, un rol determinant în impermeabilitatea pielii îl are natura hidrofobă a stratului cornos. Schimbări importante în compoziția lipidelor epidermice se produc pe parcursul evoluției celulelor, din stratul bazal către cel spinos, când are loc o transformare a lipdelor polare în lipide neutre și pierderea aproape completă a fosfolipidelor. Cele mai importante transformări au loc în stratul granulos, contribuind la formarea depozitului de lipide.

Aceste lipide derivă dintr-o structură specializată – corpul Odland a cărui primă apariție este semnalată în partea superioară a stratului granulos. Numărul lamelelor celulare devine din ce în ce mai numeros în stratul granulos unde este estimat că reprezintă aproape 15% din citoplasma celulară. Alături de sinteza crescută de cheratină și de filagrină acest fenomen explică hipertrofia cheeratinocitelor de-a lungul deplasării lor din stratul spinos către cel granulos.

În stratul granulos lamelele granulare se mișcă spre periferia celulei fuzionează cu membrana ei și-și varsă conținutul în spațiul intercelular. De-a lungul deplasării acestui material spre exteriorul epidermaui, se pot vizualiza modificările pe care le suferă prin microscopie electronică. În spațiul intercelular, conținutul acestor lamele apare ca niște discuri, iar

Scanned with OKEN Scanner

în stratul cornos apare în straturi multilamelare.

Împreună cu aceste modificări morfologice au loc şi schimbări în compoziţia lipidelor: transformarea lipidelor polare în lipide neutre. Compoziţia lipidelor din epidermă îi este caracteristică, nemaifiind întâlnită în alte structuri epiteliale: lipide neutre (70-80%), ceramide (15-20%), cantităţi mici de colesterol (2-5%). Fosfolipidele sunt virtual absente.

Analiza completă a lipidelor obţinute din pielea abdominală umană a fost făcută la următoarele trei nivele: stratul bazal şi stratul spinos, stratul granulos, stratul cornos. Folosind tehnici avansate de separare s-au obţinut lipide de o înaltă puritate. Fosfolipidele izolate din epiderm includ fosfatidil-etanolamina, fosfatidilserina, sfingomielina, izolecitina. Fiecare strat al epidermaui arată progresiv o scădere a cantităţii de fosfolipide pornind de la stratul bazal spre cel cornos.

Lipidele neutre sunt alcătuite din steroli liberi, acizi graşi liberi, trigliceride, scualenă şi n-alcani. Sfingolipidele sunt alcătuite dintr-un amestec de ceramide şi glicosfingolipide. Cantitatea de sfingolipide creşte o dată cu deplasarea pe verticală spre stratul cornos. Colesterol sulfatul a fost găsit la toate nivelurile epidermaui şi, ca toate fracţiunile fosfolipidice polare, scade cantitativ spre stratul conos.

În general, compoziţia în acizi graşi variază de la C12 la C24, predominând fracţiunile C16 şi C18. Printre lipidele neutre, lanţurile scurte de acizi graşi (C12-C14) sunt mai des întâlnite. La sfingolipide s-a observat o frecvenţă mai mare de acizi graşi cu catenă lungă (C22-C24) şi câţiva cu catenă scurtă (C12-C16).

Schimbările majore în lipidele epidermaui uman se produc împreună cu procesul de diferenţiere celulară. Apariţia unui strat cornos matur implică o creştere a lipidelor neutre şi a sfingolipidelor şi o eliminare virtuală a majorităţii lipidelor polare-fosfolipide şi colesterol sulfat. Aceste variaţii sunt strâns legate de funcţia de barieră a pielii.

Scanned with OKEN Scanner

Lampe a făcut studii asupra compoziției în lipide a epidermaui uman recoltând piele din patru regiuni diferite ale corpului: abdomen, față, picior și talpă (tabelul 2.1.).

Tabelul 2.1.

Variația regională a conținutului în lipide

	Abdomen	Picior	Față	Talpă
Masa lipidelor (%)	6,5 ± 0,5	4,3 ± 0,8	7,2 ± 0,4	2,0 ± 0,6
Lipide polare	4,9 ± 1,6	5,2 ± 1,1	3,3 ± 0,3	3,2 ± 0,9
Colesterol sulfat	1,5 ± 0,2	6,0 ± 0,9	2,7 ± 0,3	3,4 ± 1,2
Lipide neutre	77,7 ± 5,6	65,7 ± 1,8	66,4 ± 1,4	60,4 ± 0,9
Sfingolipide	18,2 ± 2,8	25,9 ± 1,3	26,5 ± 0,9	34,8 ± 2,1

S-a observat că regiunea feței este mai permeabilă, conținutul în lipide fiind mai bogat decât în talpă unde și permeabilitatea este mai scăzută. Lipidele neutre fiind în concentrația cea mai mare în stratul cornos, unde variază de la o zonă la alta, între 60-78%. Diferențe semnificative s-au semnalat în compoziția în acizi grași liberi, steroli liberi, fracția trigliceridă. Sfingolipidele au fost găsite în toate zonele în procente de 18-35%, cu o cantitate mai mare în talpă și mai mică la nivel abdominal.

Corelând aceste observații cu variațiile regionale ale absorbției percutanate s-a concluzionat că există o relație inversă între cantitatea de lipide neutre și permeabilitatea pielii.

Lipidele neutre sunt într-o concentrație crescută în abdomen, unde permeabilitatea pentru apă este joasă, iar în talpă se află într-o concentrație scăzută, unde permeabilitatea pentru apă este maximă.

3. Principii farmacologice ale permeației prin piele

Orice substanță medicamentoasă administrată pe cale transdermală, odată ce a pătruns în stratul cornos al pielii, este apoi transportată de sistemul circulator sanguin. Moleculele substanței biologic active ajunse în sânge sunt distribuite în corp sau eliminate după farmacocinetica proprie organismului.

Scanned with OKEN Scanner

Datorită faptului că pielea în sine are rolul de a împiedica pătrunderea în corp a agenţilor străini, concentraţia în plasmă a medica-mentelor administrate pe această cale este mult mai mică decât a celor administrate pe cale orală sau intravenoasă, de aceea le este necesar un timp mai îndelungat de acţiune. Substanţele biologic active care sunt legate sau metabolizate la nivelul pielii au un proces de penetrare transdermală mult întârziat.

Pentru a descrie farmacocinetica permeaţiei prin piele este necesar să fie descrise procesele de difuzie, de eliminare şi de distribuţie.

În proiectarea unui sistem de eliberare controlată a unui medicament pe cale transdermală se defineşte iniţial nivelul său plasmatic. Concentraţia sa plasmatică, atât în condiţii de repaos cât şi de activitate, este influenţată de următorii factori: *permeaţia prin piele, legarea, bioconversia, eliminarea şi distribuţia în corp.*

Influenta stratului cornos

Aşa cum am mai amintit anterior, principala barieră în calea substanţei biologic active o reprezintă stratul cornos, iar rolul major în absorbţie îl joacă lipidele celulare. Se presupune că în afară de absorbţia obişnuită mai există şi calea porilor pielii. Indiferent de cale este clar că biodisponibilitatea medicamentelor transdermale depinde de funcţia de barieră a stratului cornos, de aceea, pentru a creşte eliberarea lor sunt necesare strategii specifice care să modifice organizarea lipidelor intracelulare. Despre aceste tehnologii se va discuta mai târziu în cursul acestei lucrări.

Există însă şi situaţii în care nu doar stratul cornos are un rol determinant în absorbţia substanţei biologic active, de exemplu , în cazul substanţelor puternic lipofile trecerea lor prin stratul acesta este foarte uşoară, însă durează mai mult trecerea prin celelalte straturi ale epidermaui. Compuşii care au un astfel de comportament prezintă alte două fenomene: unul este dat de aşa numita întârziere care dă o scădere a concentraţiei a substanţei biologic active în sânge, altul este dat de atracţia lor pentru mediul lipofil din

Scanned with OKEN Scanner

stratul cornos şi formarea de adevărate rezervoare în membranele celulelor de unde se eliberează încă mult timp după îndepărtarea plasturelui.

Influenţe anatomo-fiziologice

O influenţă puternică asupra absorbţiei substanţei biologic active o are şi anatomia locală a pielii. Este cunoscut că unele regiuni sunt mai permeabile decât altele: pielea din zonele genitale, în special a scrotului, axila, pielea de pe faţă, scalp, post-auriculară. În unele cazuri acestea au fost utilizate pentru sistemele de eliberare controlată a medicamentelor, de exemplu, primul patch cu testosteron se plasa pe scrot, iar sistemul cu scopolamină era purtat după ureche. Multe sisteme transdermale funcţionează în mod egal indiferent de locul de plasare, recomandarea privind o anumită localizare ţine uneori de motive estetice (aşa cum este alegerea unui loc cât mai discret pentru estradiol) sau fiziologice (cum este plasarea nitorglicerinei pe inimă).

Starea de sănătate a pielii

Schimbările survenite în absorbţie datorate unor boli ale pielii sunt rezultatul alterării compoziţiei în lipide şi proteine a stratului cornos sau al unor modificări anormale ale diferenţierii epidermale. În psoriazis, de exemplu, hiperproliferarea epidermaui duce la un strat cornos cu o compoziţie modificată în lipide şi o rezistenţă mai scăzută la pierderile de apă şi o permeabilitate mai mare pentru substanţele biologic active aplicate local. De asemenea, o scădere a funcţiei de barieră a stratului cornos s-a observat şi în cazul eczemelor, a infecţiilor fungice superficiale, a dermatitelor atipice sau de contact, a ihtiozei, a pielii iradiate cu UV.

Se consideră că sistemele transdermale se aplică doar pe pielea sănătoasă, fără patologie dermatologică. De asemenea se evită folosirea lor şi pe piele prea uscată sau traumatizată.

Vârsta

La fel ca şi localizarea antomică, se consideră că şi vârsta are un impact deosebit în absorbţia cutanată şi implicit în biodisponibilitatea sistemelor transdermale.

Scanned with OKEN Scanner

Astfel, la vârstnici, pielea este mai sensibilă la traume, de aceea necesită o grijă deosebită în îndepărtarea patch-urilor şi o monitorizare a pacienţilor care folosesc astfel de substanţe biologic active în mod frecvent.

La polul opus, nou-născuţii, născuţi la 40 săptămâni, au un strat cornos bine dezvoltat capabil de a juca rolul de barieră. Nou-născuţii prematuri au barierele fiziologice foarte slab dezvoltate, aproape inexistente, ceea ce duce la pericolul intoxicaţiilor cu diferiţi agenţi chimici din mediul înconjurător. Deoarece administrarea substanţelor biologic active la nou-născuţi este foarte dificilă, în special datorită greutăţii de a "prinde" venele care sunt foarte mici, se consideră că pielea oferă o cale simplă şi uşoară de administrare. Această posibilitate a fost exploatată pentru teofilină. Rămâne de văzut dacă această pătrundere la nivelul pielii nu afectează dezvoltarea ulterioară a micilor organisme care de-abia încep să-şi structureze propriile funcţii organice.

Metabolismul pielii

Adesea metabolismul local al pielii poate duce la modificări semnificative ale absorbţiei şi utilizării ulterioare a medicamentelor transdermale. Efectul de pasaj cutanat pentru nitroglicerină, de exemplu, duce la pierderi de 15-20%. Într-adevăr, au fost identificate o multitudine de enzime, inclusiv sitemul citocrom P450. Totuşi capacitatea pielii de a metaboliza diferitele substanţe biologic active transdermale este limitată şi trebuie amintit faptul că nitroglicerina are un timp de înjumătăţire foarte mic, de câteva minute, prin urmare influenţa biodegradării este minoră. Într-adevăr unul dintre principalele avantaje ale administrării transdermale este evitarea metabolismului presistemic, iar un exemplu concludent îl reprezintă estradiolul.

Importanţa metabolismului prin piele depinde de capacitatea sistemului enzimatic propriu şi de ratele de difuzie şi de bioconversie. În general capacitatea de metabolizare este mică, iar biodegradarea devine semnificativă doar atunci când fluxurile de transport sunt mici.

Scanned with OKEN Scanner

Descuamarea

Aşa după cum se ştie, la fiecare trei săptămâni se produce o reînnoire a epidermei. Aceasta corespunde la descuamarea integrală a unui strat al stratului cornos pe zi. Cum afectează acest fenomen biodisponibilitatea unui sistem transdermal? Probabil că nu foarte mult mai ales pentru cele care se folosesc doar 24 ore. Însă pe cele a căror durată de acţiune este mai mare le influenţează în mod important apărând probleme legate de adeziunea patch-urilor. Astfel, după o zi sistemul transdermal este ataşat la un strat al epidermaui care în condiţii normale se elimină şi tot aşa în continuare cu alte straturi. De fapt, în cazul patch-urilor cu clonidină proiectate pentru a fi aplicate timp de o săptămână, pacienţii sunt sfătuiţi să aşeze o bandă adezivă peste ele la un interval de trei zile sau mai mult pentru a asigura contactul direct şi prelungit al lor cu pielea.

Acest factor fiziologic face ca să pară nelalocul ei sau chiar imposibilă menţinerea unui astfel de sistem într-un singur loc pe o perioadă de timp îndelungată (mai mult de o săptămână). Totuşi în multe cazuri atingerea unui asemenea scop nu reprezintă o idee foarte bună.

Iritarea şi sensibilizarea pielii

O faţetă a rolului de barieră al pielii îl reprezintă reacţiile ei la atacul agenţilor străini, reacţii care pot fi de natură imunologică sau neimunologică (inflamaţii, iritaţii etc.). Asemenea răspunsuri sunt provocate de diverşi stimuli ca radiaţiile UV, săpunuri, iedera otrăvitoare, medicamentele aplicate local şi alte componente ale sistemelor transdermale. Când o substanţă medicamentoasă are potenţial iritant, are foarte puţine şanse să candideze pentru a deveni un component al unui sistem de eliberare controlată transdermal. Dacă substanţa provoacă un eritem puternic şi alte reacţii negative la nivelul pielii nu va putea fi folosită în patch-uri. S-a încercat co-administrarea de antiinflamatoare alături de aceste substanţe, dar fără rezultate concrete.

Scanned with OKEN Scanner

Sensibilizarea este o altă problemă cu care se confruntă producătorii de medicamente cu administrare transdermală, devenită cunoscută mai ales când acestea au început să fie folosite pe scară largă (de exemplu clonidina). Se necesită efectuarea unui screening în populație pentru detectarea eventualelor persoane sensibile la acea substanță mai ales în cazul celor folosite pentru un tratament cronic.

Regiunea de aplicare

S-a observat o reală variație a permeabilității atât între indivizi cât şi între diferitele părți ale corpului. Aceste diferenţe apar datorită grosmii stratului cornos, a gradului de pilozitate sau stadiului de hidratare. La om, permeabilitatea creşte în sensul următor:

piele palmară < antebraț < trunchi < cap < coapsă < ureche

Controlul real al absorbției pe cale transdermică nu este realizabil decât pentru un număr restrâns de medicamente.

Hidratarea pielii

Stratul cornos poate reține de patru ori mai multă apă decât greutatea sa, crescând astfel permeabilitatea la un factor de 4-5. Această hidratare creează zone de discontinuitate prin care e facilitată difuzia.

Efectul ocluziv este un alt factor cu rol deosebit în difuzie. În literatură se descrie procesul de umflare a stratului cornos printr-un fenomen de retenție a apei şi pune în evidență creşterea permeabilității prin tensioactive ca lauril sulfatul de sodiu. Printr-o simplă ocluzie a pielii permeabilitatea ei creşte de 2-5 ori.

Irigarea pielii

Dacă traversarea epidermei e foarte lentă, debitul sangvin este întotdeauna suficient pentru a antrena substanța activă cedată de sistemul terapeutic. Când capacitatea de absorbție în sânge este scăzută, creşterea ei se obține prin vasodilatarea realizată prin aplicarea cutană a substanțelor auxiliare ca esteri ai acidului nicotinic.

Scanned with OKEN Scanner

Temperatura

Rolul pozitiv al creşterii temperaturii în penetrarea substanţelor este stabilit mai mult teoretic decât practic. O creştere de câteva grade, suportabilă, nu modifică viteza de difuzie în proporţii utile.

Integritatea tesutului cutanat este determinantă. Este evident că o piele lezată este mult mai permeabilă prin distrugerea parţială a barierelor.

3.1. Factori de formulare. Factorii fizico-chimici ai transportului

Biodisponibilitatea medicamentelor depinde de rata de absorbţie şi de suprafaţa de absorbţie. Cantitatea de substanţă biologic activă absorbită (Q), este egală cu integrală din rata de absorbţie raportată la timpul de aplicare (Tap), conform formulei:

$$Q = \int_0^{Tap} AJ\ (t)\, dt \qquad (3.1.)$$

unde: J(t) (cantitatea/arie/timp) este fluxul instantaneu prin barieră,
A este aria de contact dintre piele şi sistemul de eliberare controlată.

Permeaţia prin stratul cornos se face prin difuzie, proces foarte bine descris de legile lui Fick. Se consideră cea mai simplă situaţie în condiţii normale de temperatură şi presiune: se presupune că substanţa biologic activă are o concentraţie constantă (Cv), iar pe cealaltă parte a membranei predomină condiţiile de "scufundare" (adică există o concentraţie mai mică de substanţă biologic activă de cealaltă parte a membranei, Cd). În condiţii constante gradientul de concentraţie este liniar, se aplică legea întâi a lui Fick, iar fluxul (J(t)=J=constant) este dat de :

$$\mathbf{J = (DK/h)Cv = K_pCv} \qquad \mathbf{(3.2.)}$$

unde:

Scanned with OKEN Scanner

- D reprezintă difuzitivitatea aparentă a substanţei biologic active în stratul cornos, care este considerat în acest moment a fi pasul hotărâtor în determinarea ratei de absorbţie;
- K este coeficientul de partiţie al al substanţei biologic active prin stratul cornos;
- h este grosimea barierei;
- Kp este definit ca fiind coeficientul de permeabilitate prin piele.

Influenţa formulării şi a proprietăţilor fizico-chimice ale substanţei biologic active asupra biodisponibilităţii pot fi acum apreciate corect deoarece în condiţii constante este o relaţie directă între J şi concentraţia plasmatică (C_{ss}):

$$\textbf{Rata de intrare} = AJ = \textbf{Rata de ieşire} = ClC_{ss} \quad (3.3.)$$

unde: Cl este cleareance-ul substanţei biologic active

Urmează că J, care depinde de doi parametri puternic influenţaţi de condiţiile de formulare ale medicamentului (K_p, C_v), determină într-un mod direct dacă se poate sau nu atinge concentraţia plasmatică urmărită şi dacă aria de contact dintre sistemul de eliberare controlată şi piele este suficientă.

Din punctul de vedere al formulării, J poate fi mărit prin manipularea valorilor lui C_v sau K. Cea mai directă cale este aceea de creştere a concentraţiei medicamentului, C_v, prin folosirea unei formulări saturate de substanţă biologic activă ceea ce-i permite o creştere cât mai accentuată a valorilor lui J. Trebuie avut în vedere dacă această formulare este stabilă.

Se poate deci ca substanţa medicamentoasă să fie într-o cantitate insuficientă pentru timpul dorit de acţiune. Prin urmare, este necesară stabilirea unui echilibru între K şi Cv pentru ca medicamentul să se deplaseze înspre piele şi să aibă o solubilitate suficient de mare pentru a fi posibilă eliberarea sa.

Scanned with OKEN Scanner

Trebuie menționat că, în condiții ideale (când nu există interacții între formularea medicamentului și stratul cornos), toate formele saturate cu o anumită substanță biologic activă vor produce aceeași concentrație și flux maxim prin piele. Aceasta pentru că în aceste condiții gradientul potențialului chimic al substanței biologic active prin piele este identic, el determinând acest flux.

Mai simplu, se poate explica acest fenomen în felul următor: coeficientul de partiție al substanței biologic active dintre stratul cornos și vehicul este proporțonal cu concentrațiile lor în cele două faze de echilibru. În acest moment, activitatea termodinamică a medicamentului în stratul cornos o egalează pe cea din vehicul.

Dacă acesta este cazul în care forma medicamentului este saturată în substanță activă, atunci, la echilibru, concentrația substanței biologic active în stratul cornos va atinge valoarea sa de saturație (Csc, sat), iar coeficientul de partiție este dat de relația:

$$K = C_{sc,\,sat}/C_{v,\,sat} \qquad (3.4.)$$

Înlocuind ecuația (4) în ecuația (2), unde $C_v = C_{v,\,sat}$, se obține:

$$J = J_{max} = (D/h)(C_{sc,\,sat}/C_{v,\,sat})C_{v,sat} \qquad (3.5.)$$

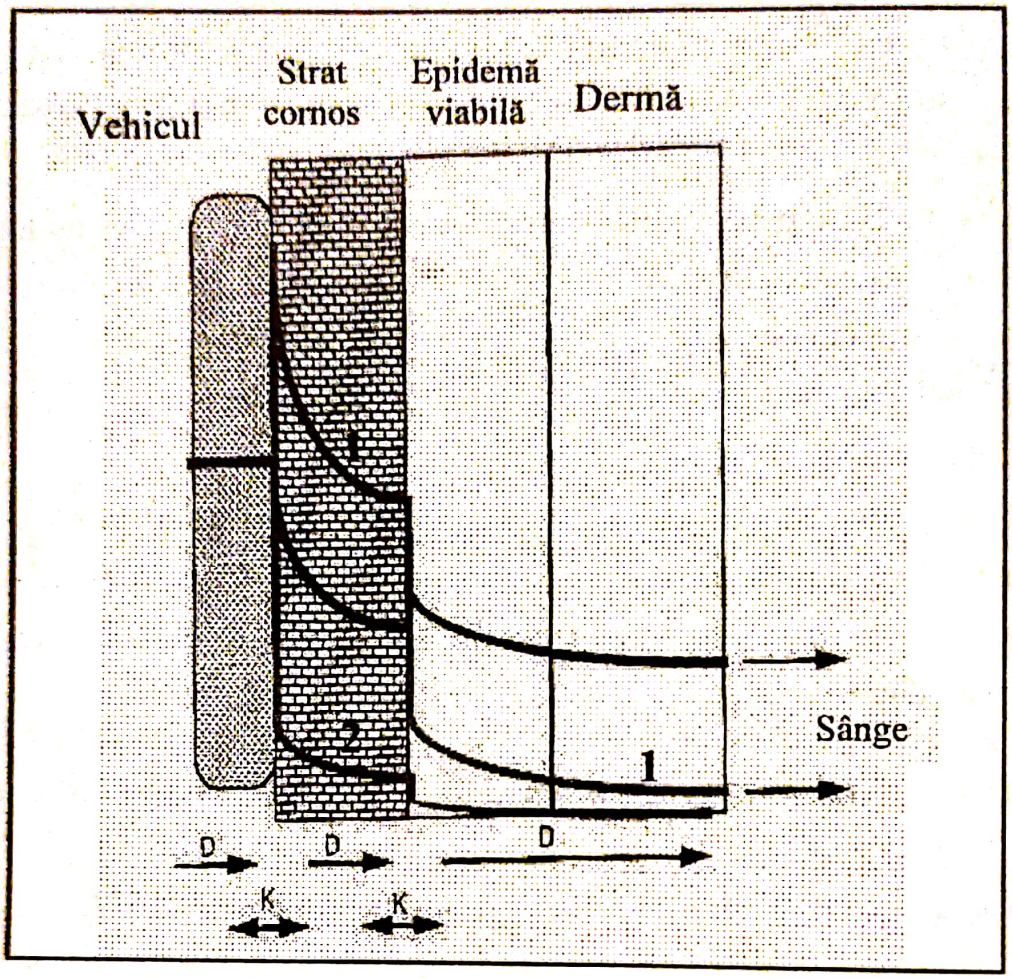
De aici rezultă clar că J_{max} este independent de vehicul.

Ținând cont de proprietățile fizico-chimice ale substanței biologic active, se consideră în general că solubilitatea în lipide și dimensiunile moleculei sunt determinante pentru valorile coeficientului de permeabiliate prin stratul cornos, prin impactul lor asupra valorilor lui K și D.

Solubilitatea în lipide este o trăsătură importantă în "acceptarea" substanței biologic active de către stratul cornos. Medicamentele utilizate în mod curent în această formulare au valorile log(octanol-apă) ale coeficienților de partiție cuprinse între 0,8 și 3,3.

Scanned with OKEN Scanner

Figura 3.1. Profilele concentraţiilor pentru trei substanţă biologic active cu proprietăţi lipofile diferite (1-cel mai lipofil, 2-cel mai puţin lipofil).



Stratul cornos nu este un mediu primitor pentru nici o substanţă polară sau încărcată electric, iar penetrarea acestora prin piele este atât de scăzută încât împiedică eliberarea lor pasivă. Totuşi, nici o solubilitate prea mare în lipide nu este indicată de vreme ce transportul efcient în circulaţia sistemică (sau chiar în celule-ţintă ale pielii în cadrul tratamentului dermatologic) cere o difuzare a substanţei biologic active în apa din straturile inferioare ale epidermaui. Pentru ca această fază a transferului să nu devină limitată de absorbţie, este necesar ca substanţa biologic activă să aibă şi o oarecare solubilitate în apă (altfel este posibilă obţinerea unui efect farmacologic puternic la concentraţii joase, la locul de administrare).

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 3.1.

Proprietăţile fizico-chimice şi farmacocinetice ale principalelor substanţe administrate transdermal

Medicament	Masă mol.	Log Ko/a (I)	Cl (l/h) (II)	T1/2 (III)	Bd o (IV)	Conc.e (V)
Scopolamină	303	1,24	67,2	2,9	27	0,02
Clonidină	230	0,83	13	6-20	95	0,2-2
Nitroglicerină	227	2,05	966	0,04	<1	1,2-11
Estradiol	272	2,49	615-790	0,05	-	0,04-0,06
Fentanil	337	2,93	27-75	3-12	32	1
Nicotină	162	-	77,7	2	30	10-30
Testosteron	288	3,31	-	-	<1	10-100

unde: I. Coeficientul de partiţie octanol-apă; II. Clearance total; III. Timpul biologic de înjumătăţire; IV. Forma obişnuită a substanţei biologic active.

Difuzia substanţei biologic active este invers proporţională cu mărimea moleculei. În lichide această dependenţă este adesea exprimată de ecuaţia Stokes-Einstein (D =RT/6nr, unde n este vâscozitatea, iar r este raza de difuzie a solutului), ceea ce duce la deducţia că D este invers proporţional cu rădăcina cubică a volumului molecular (V).

În multe structuri organizate precum polimerii şi stratul cornos, dependenţa este mai severă şi a fost sugerată empiric de o relaţie exponenţială (D ca exponenţial [- bv], unde b este o constantă). Aceasta înseamnă că difuzia substanţei biologic active prin stratul cornos este influenţată de masa moleculară de vreme ce volumul şi masa sunt strâns legate. Din nou trebuie amintit că substanţele folosite în obţinerea de sisteme transdermale au mase moleculare mai mici de 350. Există, de asemenea, o relaţie între K (apă-ulei) şi masa moleculară, aceasta fiind valabilă pentru moleculele substanţelor biologic active convenţionale. Astfel, cu cât masa creşte, cu atât creşte şi K. Un rezultat practic al acestei concluzii este că de multe ori compuşii polari mici au adesea capacităţi de penetrare mai mari

Scanned with OKEN Scanner

decât sunt de aşteptat datorită lipofilicităţii lor, ceea ce duce la o difuzivitate mare.

O altă întrebare ce se pune este cât timp îi trebuie substanţei biologic active pentru a atinge concentraţia dorită în plasmă. Acest timp poate fi determinat, cel puţin în parte, prin eliminarea cineticii substanţei biologic active din corp, pentru compuşi cu un timp de înjumătăţire relativ scurt

Aşa numitul timp de întârziere sau "lag-time", este de obicei rezultatul difuziei slabe prin stratul cornos. De aceea, este nevoie de un anumit timp pentru a stabili gradientul de concentraţie prin bariera membranară. Timpul de întârziere (TL), este definit ca:

$$TL = h*h / 6D \qquad (3.6.)$$

TL este aproape o treime din timpul necesar pentru a organiza un profil de concentraţie prin stratul cornos. Dat fiind că D este invers dependent cu masa moleculară a substanţei biologic active, rezultă că TL este mai mare pentru compuşi cu masa moleculară mare.

Penetrarea cutanată este influenţată de factori legaţi de substanţa activă (coeficientul de partaj; gradul de ionizare; promotorii de absorbţie; volatilitatea; concentraţia) şi factori legaţi de piele.

În concordanţă cu legea lui Fick şi difuzia pasivă, viteza de penetrare şi de difuzie creşte cu concentraţia în substanţă activă. Pentru unii compuşi această lege nu poate fi verificată; cu derivaţii fenolici şi chiar cu fenolul se observă contrariul, probabil datorită unei alterări epidermice.

$$J = \frac{DK}{l}\Delta C = P\Delta C = \frac{l}{R}\Delta C \qquad (3.7.)$$

unde: J – flux; D- coeficientul de difuzie; K- coeficientul de partaj;
l - grosimea stratului cornos; ΔC – diferenţa de concentraţie:

Scanned with OKEN Scanner

P – constanta de permeabilitate; R – rezistența la difuzie.

Ecuația arată că fluxul unei substanțe la traversarea pielii depinde nu numai de constanta de difuzie (D) dar şi de proprietățile vehiculului. Coeficientul de partaj că şi concentrația au repercursiuni asupra lui J. Dacă trecerea în stratul cornos este slabă, principiul activ va fi resorbit simultan. Cea mai mare parte a excipienților au o mare putere de penetrare, pot să modifice structura stratului cornos, ceea ce duce la schimbări ale factorilor D şi K. Difuzia prin stratul cornos se face prin intermediul unui mediu discontinuu, format din proteine hidrofile dispersate într-o fază lipidică.

3.2. Căi fizico-chimice de creştere a permeabilității pielii

Alături de proprietățile substanței biologic active, lipidele şi proteinele membranare influențează rezistența la permeație. Factorii care influențează permeabilitatea pielii sunt: concentrația substanței biologic active dizolvate la periferia stratului cornos şi coeficientul de difuzie al substanței biologic active din stratul cornos. Pentru mărirea concentrației principiului activ, la periferia stratului cornos, plasturele (patch-ul) trebuie astfel proiectat încât concentrația substanței active în matrice să fie peste limita de saturație, iar coeficientul de liposolubilitate poate fi crescut prin prepararea de promedicamente cu punct de topire scăzut.

3.2.1. Modificatori chimici ai permeabilității

Un modificator chimic poate fi definit ca un compus care, prin prezența sa în stratul cornos alterează funcția de barieră a pielii pentru substanța biologic activă administrată. În afară de capacitatea de creştere a permeației prin piele a substanței biologic active, un astfel de compus trebuie să mai îndeplinească următoarele condiții: să fie lipsit de toxicitate, neiritant, nesensibilizant, să nu influențeze răspunsul farmacologic al substanței active, acțiunea sa să fie reversibilă şi efectul prompt, cu o durată uşor de precizat.

Scanned with OKEN Scanner

Cercetările pentru găsirea unui modificator ideal continuă. Au fost testaţi mulţi detergenţi, solvenţi, uleiuri, dar şi alţi compuşi. În fiecare an se înregistrează apariţia a peste 50 de proiecte, brevete. Există 15 asfel de proiecte doar pentru β-estradiol. Datorită unei necunoaşteri a modului lor de acţiune, aceste proiecte sunt destinate doar anumitor tipuri de substanţe medicamentoase.

Modificatori ai căii polare

Aceşti compuşi afectează calea polară de pătrundere în piele. Stratul cornos este adesea privit ca fiind format de cheratinocite ("cărămizi") înconjurate de lipide ("mortar") formând un material biocompozit.

Calea polară este reprezentată de trecerea prin proteinele hidratate din cheratinocite. Se crede că modificatorii chimici afectează această cale prin modificările conformaţionale ale proteinelor. Apa, fiind o moleculă polară pătrunde pe calea amintită, dar are proprietăţi specifice de creştere a propriei permeabilităţi. Câţiva cercetători au arătat că apa creşte permeabilitatea pielii pentru un număr mare de substanţe biologic active lipofilice şi hidrofilice. Knutson a concluzionat că hidratarea şi temperatura crescute fac să se modifice pozitiv permeabilitatea moleculelor lipofile, acest fenomen fiind datorat schimbărilor structurale ce au loc la nivelul lanţului de carbon.

Surfactanţii au capacitatea de dizolva substanţele lipofilice ca grăsimi, uleiuri în soluţii apoase. De asemenea, pot distruge structura terţiară a proteinelor, denaturându-le. Astfel de substanţe se aşteaptă a modifica calea polară. S-a văzut că au crescut permeaţia apei, a glucozei, a salicilatului de sodiu, a acidului nicotinic şi a altor câteva substanţe biologic active hidrofilice. Efectul lor preferenţial pe calea polară a fost studiat de Cooper care a arătat că decilmetil sulfoxidul creşte substanţial permeaţia acidului salicilic ionizat, dar foarte puţin pe cea a formei neionizate. Surfactanţii sunt alcătuiţi dintr-un cap hidrofilic şi un lanţ lipofilic. S-a arătat că un lanţ de carbon –12, lipofilic dă cea mai bună creştere, probabil pentru că este suficient de lipofilic pentru a dizolva lipidele stratului cornos care sunt

Scanned with OKEN Scanner

capabile să altereze structura proteinelor. Cooper şi Berner au demonstrat că pe măsură ce capul este mai hidrofilic, cu atât va creşte interacţiunea cu proteinele şi, implicit capacitatea de modificator al permeabilităţii. Această capacitate a surfactanţilor creşte cu următoarele grupuri cu rol de cap: alcooli, etoxilaţi, sulfoxizi, ionic.

Modificatori ai căii nepolare

La temperaturi fiziologice, lipidele din spaţiul intercelular a stratului cornos sunt în majoritate sub formă de gel şi câteva în stare cristalin-lichidă. Natura căii lipidice, ca şi modul de creştere a permeabilităţii pe această cale nu sunt încă elucidate. Acizii graşi nesaturaţi cu catenă mare au capacitatea de a creşte permeabilitatea substanţelor biologic active lipofilice.

Solvenţii ca 2-pirolidona, N-metil formamida şi DMSO sunt capabili doar de a distruge calea lipidică, dar şi de a promova permeaţia. Se presupune că DMSO interacţionează cu capetele bipolare ale stratului bilipidic şi astfel întrerupe ordinea lipidică.

Există şi sisteme, aşa-numite binare, în sensul că acţionează pe ambele căi (atât polară cât şi nepolară) sau deschid o nouă cale, multistratificată, eterogenă. Cel mai bun sistem binar este format dintr-un acid nesaturat, de exemplu, acidul oleic, şi un diol precum propilen glicolul. Propilen glicolul nu acţionează asupra lipidelor, ci este capabil să dizolve cheratina şi competitiv la situsurile de legare ale hidrogenului din proteine. Alţi dioli sunt şi ei eficienţi în acestă direcţie, însă eficacitatea lor scade cu creşterea numărului de atomi de carbon din catenă. Trebuie amintit că toţi modificatorii chimici cauzează reacţii locale, neexistând încă unul perfect. În tabelul 3.3. sunt prezentate o serie de substanţe utilizate în scopul modificării chimice a permeabilităţii pielii.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 3.3.

Modificatori chimici ai permeabilității

Compus	Mecanism de acțiune	Reacții ale pielii	Cantitatea
Alchil sulfoxizi			
Dimetil sulfoxidul (DMSO)	Produce hipertrofia stratului cornos	Eritem, senzații de arsură	DMSO 60%
Hexilmetil sulfoxidul	Împreună cu DMSO probabil scoate apa din lanțurile proteice polare	—	—
Decilmetil sulfoxidul	Probabil are reacții hidrofobice cu proteinele	—	—
Acizi grași			
Acizii cis și trans octadecanoici	Cresc fluiditatea lipidelor, în special pentru izomerii cis nesaturați, cum este acidul cis vaccinic	Nu sunt reacții	—
Acidul caprilic			
Mono, di și triesteri ai glicerinei și acizilor grași	—	Nu sunt reacții	—
Surfactanți			
Surfactanți ionici, ca lauril sulfatul de sodiu, clorura de benzalconiu	Distrugerea integrității pielii, hipertrofia stratului cornos, interacțiunea cu cheratina	Iritație puternică	0-1,5%
Surfactanți neionici	Probabil formează micelii care interacționează cu cheratina, fluidizează lipidele	Iritație mai redusă, creșterea metabolismului celular	—
Perechi de ioni			

Scanned with OKEN Scanner

Lauril sulfatul de sodiu	Solubil în grăsimi, formează perechi de ioni cu substanţa biologic activă	Iritaţie puternică, sensibilizare	0-1,5%
Bromatul de tetrabutil amoniu	—	Iritaţie puternică, sensibilizare	—
Clorura de benzalconiu	—	Iritaţie puternică, sensibilizare	0,5%
Surfactanţi amfoterici			
Etomen S12			
Alcooli			
Metanol	Dizolvarea lipidelor		0-100%
Etanol	Dizolvarea lipidelor		0-100%
Alcanoli	În apropierea lui n=6, solubilizează lipidele	—	0-100%
Derivaţi eterici ai PEG 400	Solubilizează lipidele	—	0-100%
Glicerol	Umectant, eficient în combinaţie cu apa	50% reacţii alergice, 25% fără reacţii sau reacţii blânde, iritaţie puternică la ocluzie	0-5%
Dioli	Umectanţi, cheratolitici Butandiolul are proprietăţi deosebite de creştere a permeabilităţii	50% reacţii alergice, 25% fără reacţii sau reacţii blânde, iritaţie puternică la ocluzie	0-5%
N-metil-2-pirolidona	—	Mai puţine reacţii decât DMSO, fără sensibilizare, fără arsuri	0-100%
2-Pirolidona			

Scanned with OKEN Scanner

Dimetil formamida	—	—	—
Dimetil acetamida	—	Eritem	—
Ureea	Proprietăți cheratolitice și de denaturare a proteinelor	Iritație puternică	—
1,1,1 Tricloretanul	Delgresarea pielii (tratamentul pielii înainte de aplicareas ubstanței biologic active)	Iritație puternică	—
Acidul salicilic	cheratoliză		2-10%

3.2.2. Metode fizice de mărire a permeabilității pielii

Au fost propusei metode fizice care, alături de factorii chimici măresc permeabilitatea pielii, în fapt permit trecerea substanțelor biologic active prin ea. Acestea sunt iontoforeza și fonoforeza ce vor fi discutate în cele ce urmează. A fost descoperită și o a treia metodă care implică îndepărtatarea stratului cornos cu ajutorul luminii laser polarizate. Când se aplică lumina laser cu o anumită lungime de undă, o anumită intensitate și putere, stratul cornos este îndepărtat fără distrugeri semnificative ale epidermaui de sub el. Se preconizează folosirea acestei metode în viitorul apropiat pentru introducerea de molecule proteice cu mase moleculare mari în piele.

Iontoforeza

Iontoforeza este o metodă care favorizează pătrunderea medicamentelor prin piele folosind curenți aplicați local. Rata de eliberare este proporțională cu curentul aplicat.

Dezvoltarea, conceptele de bază și aplicațiile biomedicale ale acestei metode în eliberarea medicamentelor din sistemele transdermale au fost publicate recent de Banga și Chien.

Scanned with OKEN Scanner

La început s-a folosit în clinici pentru eliberarea pilocarpinei (utilizată în scopul îndepărtării transpirației) în diagnosticarea fibrozei chistice de pancreas. În alte aplicații se folosește pentru eliberarea lidocainei și a altor anestezice în canalul auditiv. În dermatologie, iontoforeza s-a folosit în tratamentul hiperhidrozei. Altă aplicație majoră este eliberarea insulinei în cazul diabeticilor.

Avantajul acestei metode îl constituie faptul că astfel pot penetra pielea și substanțe biologic active cu ionice care sunt greu absorbabile prin piele prin difuzie pasivă. În cazul lor, utilizarea unor compuși chimici capabili să le crească permeația provoacă iritații sau reacții de sensibilizare. Iontoforeza este prin definiție un proces ce implică transportul moleculelor încărcate ionic în țesut prin trecerea unui curent electric printr-o soluție de electrolit.

Iontoforeza poate fi asociată cu un transport crescut de apă (ionto-hidrokineză) care, indirect crește transportul neelectroliților.

Ecuația Nerst – Plank este folosită pentru a descrie transportul membranar de ioni:

$$J = - D(dC/dx) - DZeEC/kT \qquad (3.7.)$$

unde:

J este fluxul ionilor prin membrană
D este coeficientul de difuzie
C este concentrația ionilor cu valența Z și sarcina electrică e
E este intensitatea câmpului electric
k este constanta lui Boltzman
T este temperatura absolută

În cazul transportului unui neelectrolit ecuația se reduce la prima lege a difuziei (Fick):

$$J = - D (dC/dx) \qquad (3.8.)$$

Scanned with OKEN Scanner

Pentru un ion cu o concentrație constantă în sistem dc / dx = 0, iar ecuația lui Planck devine ecuația electroforezei:

$$J = DzeEC/kT \qquad (3.9.)$$

Ecuația Nerst–Planck presupune că doar forța de conducere a elementelor chimice este egală cu gradientul chimic negativ al potențialului chimic al unui singur element. Neglijează cuplarea potențialului chimic cu alte specii în fluxul lor. De exemplu, gradientul potențialului chimic al apei activează nu doar fluxul apei ci şi al solutului dizolvat în apă. Pikal a descris recent un model teoretic pentru efectul debitului electroosmotic asupra fluxului crescut în iontoforeza transdermalelor; el propune un debit contorizabil ca fiind probabil mecanismul debitului fluidului.

Mişcarea ionilor încărcați electric într-un câmp electric are loc sub influența gradientului potențialului electric şi poate fi opus unei creşteri variabile a rezistenței conform legii lui Ohm:

$$U = I*R \qquad (3.10.)$$

unde: U este tensiunea; I este intensitatea curentului; R este rezistența.

Legea lui Ohm este valabilă doar pentru curentul electric cu un singur sens. Pentru curentul aplicat prin piele, se aplică doar pentru tensiuni până la valoarea de 2V. Curentul continuu are un singur sens, cel alternativ variază periodic.

Proprietățile electrice ale pielii

Stratul cornos este un bun izolator electric datorită conținutului său de apă (aproximativ 20%). Conductivitatea electrică a țesutului viu este invers proporțională cu conținutul în apă. Stratul cornos are o rezistență electrică mare, ceea ce duce la o impedanță mare, corelată cu capacitanța pielii. Pielea are o impedanță mare la frecvențe joase. Țesuturile vii, precum pielea, se

Scanned with OKEN Scanner

comportă ca elemente capacitive fiind capabile să înmagazineze energie electrică.

Când un circuit electric conține atât elemente capacitive cât şi rezistive se numeşte reactiv. Curenții reactivi prezintă mai mult impedanță decât rezistență. S-a observat că pielea are o impedanță mare la curenții alternativi cu frecvență joasă; această impedanță scade foarte mult când pielea este lovită.

Curentul continuu poate induce apariția unor curenți care maschează adevărata rezistență a țesutului, care având sens opus curentului ce traversează pielea reduce astfel eficiența iontoforezei.

Modificările ireversibile la nivelul pielii prin aplicarea curentului electric se produc la valori ale tensiunii mai mari de 2V.

Mecanismul eliberării SDC prin iontoforeză şi drumul lor prin piele pot fi influențate de mai mulți factori. Dacă medicamentul este încărcat electric, procesul de iontoforeză poate fi complicat de prezența speciilor ionizate şi neionizate în soluție, fiecare pătrunzând în piele cu diferite viteze. Pentru substanțele biologic active foliculii de păr şi glandele sudoripare se comportă ca niște şunturi. S-a constatat că rezistența pielii scade cu creşterea intensității sau a tensiunii, la curenți cu densitate mai mică de 15μA /cm^2 şi timp de expunere de la 10 la 20 minute.

Câteva aplicații recente includ iontoforeza SDC cu ioni de cupru la masculii diferitelor specii de animale în vederea contracepției, cu ioni de Ag în tratamentul osteomielitei cronice, cu ioni de Zn pentru tratamentul ulcerațiilor ischemice ale pielii sau cu iod pentru reducerea cicatricilor. Printre alți agenți activi, histamina, cu rol vasodilatator a fost folosită ca un cuantificator al iritației şi pentru diminuarea durerilor articulare şi spasmelor musculare. Antiinflamatorii steroidieni folosiți sub formă de sisteme de dozare controlată au fost eliberați prin iontoforeză în tratamanetul local şi sistemic al sindromului Peyrone. Recent, experimente cu sisteme de dozare controlată conținând steroizi eliberați prin această metodă nu au reuşit să

Scanned with OKEN Scanner

demonstreze penetrarea corticosteroizilor prin piele. Efectele benefice observate în cazurile clinice de aplicație a acestor sisteme cu steroizi prin iontoforeză au fost atribuite efectelor analgezice şi antiinflamatoare ale curentului continuu.

Alte utilizări includ eliberarea prin iontoforeză a hialuronidazei în tratamentul limfedemului, eliberarea salicilatului de sodiu în tratamentul negilor plantari, a adenozin arabinozei împotriva leziunilor herpetice şi administrarea antibioticelor în arsuri. Efectele negative ale iontoforezei au apărut în cazul tratamentului hiperhidrozei, incluzând înfundarea glandelor sudoripare alături de posibile modificări anormale în cheratinizare.

Iontoforeza continuă să fie folosită în diagnosticarea fibrozei chistice.

Există o listă, în continuă creştere, de peptide terapeutice şi hormoni proteici care au putut fi eliberați cu uşurință prin iontoforeză (sub formă de SDC), incluzând şi insulina. Calea transdermală pentru peptide este preferată celei orale datorită atât degradărilor pe care le suferă de-a lungul tractului digestiv cât şi absorbției scăzute la acest nivel.

În general, pătrunderea peptidelor pe cale transdermală este limitată datorită dimensiunilor lor mari (masa moleculară mare). Dacă sunt încărcate electric sau sunt puternic polare permeația prin piele este slabă neatingându-se astfel concentrația terapeutică. În teorie, peptidele mici şi factorii de creştere pot fi eliberați satisfăcător, în cantități nanomolare (dacă sunt active în aceste cantități), sau dacă au ca țintă pielea.

Fonoforeza

Fonoforeza implică folosirea energiei ultrasunetelor în vederea creşterii permeabilității pielii pentru anumite substanțe care altfel nu o pot penetra. Energia mecanică eliberată prin tratamentul ultrasonic este obținută prin trecerea unui curent electric alternativ printr-un cristal piezoelectric.

Utilizarea ultrasunetelor pentru a creşte permeabilitatea prin membrane de polimeri se bazează pe modificările de ultrasonare şi nu pe creşterea locală a temperaturii. S-a arătat că această modificare a permeabilității este un

Scanned with OKEN Scanner

rezultat al dezactivării barierelor energetice de la nivelul membranei. A fost dovedită creşterea permeabilităţii pielii pentru insulină, acetat de fluocinolonă, prinocainã, lidocainã, manitol etc. Fonoforeza afectează atât căile polare cât şi pe cele nepolare. Fonoforeza cu antiinflamatoare şi anestezice locale este utilizată curent în practica medicală. Parametrii care pot fi optimizaţi în ultrasonicare sunt: durata, frecvenţa, intensitatea şi perioada impulsurilor.

Clinic, intensitatea dozelor este sub 2W/cm2, iar durata tratamentului este între 5 şi 20 minute. Substanţe biologic active pot fi eliberate într-un mod continuu sau pulsatil, cu un început blând. Frecvenţa ultrasunetelor utilizate este în general mai mică de 3MHz. Recent s-a arătat că folosind frecvenţe ceva mai mari (15 MHz), permeaţia poate fi crescută progersiv, având însă un control strict al frecvenţei.

4. Tipuri de siteme transdermale

4.1. Noţiuni generale

Un sistem transdermal este un dispozitiv adeziv aplicat prin presiune la suprafaţa pielii şi care conţine un principiu activ destinat unei acţiuni sistemice după o eliberare prelungită sau controlată. Sistemul transdermal ideal nu trebuie să elibereze pe unitatea de suprafaţă decât o cantitate de substanţă activă inferioară celei lăsate să treacă de regiunea cu pielea cel mai puţin permeabilă. Prin urmare trebuie să se cunoască variaţia permeabilităţii pielii pentru toate formulările unui sistem transdermic ţinând cont în acelaşi timp de vehiculul folosit şi de principiul activ. Formele de dozare transdermică pot fi de două mari categorii: forme de tip rezervor şi forme monolit.

Componentele unui sistem transdermal sunt substanţa biologic activă, unul sau mai mulţi polimeri, vehiculul şi alţi excipienţi. Polimerii se folosesc

Scanned with OKEN Scanner

ca adezivi sensibili la presiune. Un astfel de adeziv nu necesită prezența unui solvent, are proprietăți vâscoelastice, este capabil să adere instantaneu la majoritatea suprafețelor solide prin aplicare la presiune neglijabilă, iar la desprindere lasă urme infime ex. acrilatul, siliconat sau cu cauciuc.

Membrana posterioară ca şi alte membrane sunt fabricate din polimeri diverşi incluzând etilen vinil acetatul, polipropena, poliester, polietilena, polizobutilena, policlorura de vinil. Filmele utilizate în mod curent includ spume, membrane cu micropori etc. În cazul în care substanța biologic activă nu este dizolvată într-unul sau mai multe straturi polimerice, vehiculele utilizate sunt uleiurile minerale, palmitatul de izopropil, polietilen glicolul, glicerina, apa. Alți excipienți pentru stabilitate sau pentru alte scopuri pot fi lactoza, dioxidul de siliciu, agenți de legare şi hidroxi-etilceluloza.

Sistemul rezervor este alcătuit din patru straturi: stratul adeziv care intră în contact direct cu pielea; membrana de control care controlează difuzia moleculelor de medicament; rezervorul de medicament; un strat posterior rezistent la apă.

Acest sistem eliberează cantități constante de medicament la perioade specificate de timp, iar rata de eliberare trebuie să fie mai mică decât limita de saturație la diferite tipuri de piele.

Sistemul monolit are trei straturi: stratul adeziv; o matrice polimerică în care sunt înglobate moleculele de medicament; stratul posterior rezistent la apă.

Acest sistem eliberează substanța biologic activă în piele până la saturație, ceea ce duce la controlul de către piele a eliberării lui în sistemul circulator.

Vom prezenta în continuare câteva informații despre modalitatea de producere a acestor sisteme transdermale. În S.U.A. a fost aprobat un număr de şapte substanțe pentru a fi folosite pe cale transdermală: scopolamină, nitroglicerină, clonidină, estradiol, fentanil, nicotină şi testosteron. Toate acestea sunt extrem de eficiente, nici unul nu necesită mai mult de 20mg pe zi

Scanned with OKEN Scanner

(iar unele chiar mai puțin). Sistemele transdermale sunt astfel concepute încât să asigure prezentarea agentului activ la suprafața pielii la o rată suficientă corespunzătoare unui efect farmacologic sistemic.

Există şi o altă clasificare a sitemelor de eliberare transdermală, în trei categorii: *sisteme adezive; sisteme stratificate; sisteme rezervor.*

După îndepărtarea învelişului protector toate aceste forme prezintă două suprafețe comune exterioare. Pe o parte se află un strat impermeabil atât pentru substanța biologic activă cât şi pentru alt component al sistemului, ea nu vine în contact cu pielea; pe partea cealaltă se află o bandă detaşabilă (la contactul cu pielea), dar impermeabilă. Între aceste straturi compoziția sistemului este variabilă. Producerea unui sistem transdermal este un proces complex, necesitând echipamente speciale. În general, se identifică două proceduri: una pentru patch-urile solide (sistemele adezive şi cele stratificate) şi o alta pentru sistemele rezervor.

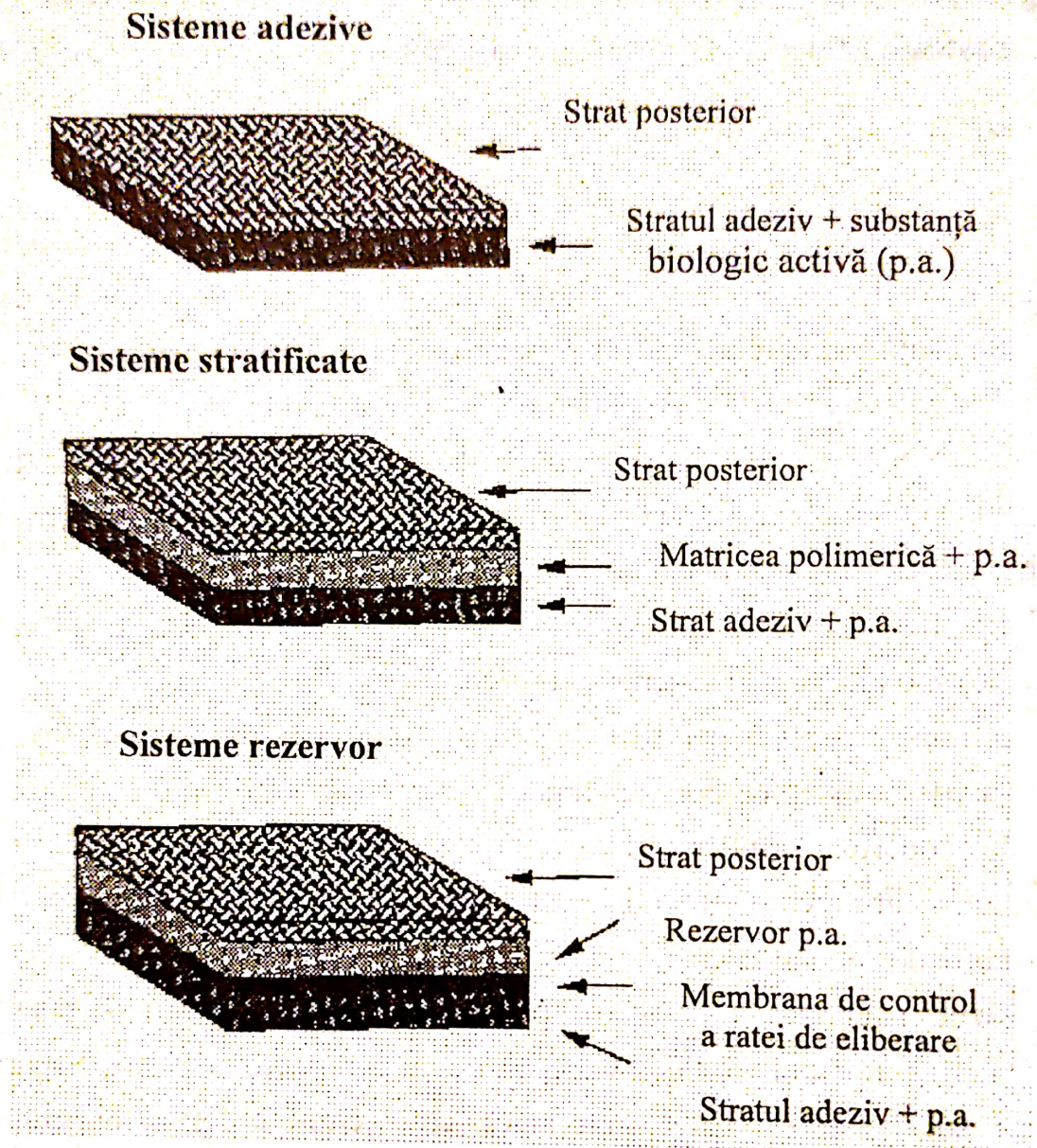
În primul caz paşii cei mai importanți sunt: amestecarea substanței biologic active, a excipienților, a polimerilor şi a solventului pentru a obține o soluție de acoperire; întinderea soluției pe porțiunea protectoare, evapora-rea solventului, formarea stratului protector; obținerea de patch-uri la dimensiunile dorite; ambalarea.

În cazul sistemelor rezervor componentele acestui rezervor (substanța biologic activă, lichidul vâscos, excipienții) sunt amestecate primele. Separat polimerii adezivi şi solventul sunt amestecați pentru a forma o soluție. Solventul este evaporat şi membrana este întinsă pe adeziv. Sistemul este asamblat prin formarea filmului protector, a rezervorului de substanță biologic activă.

Alegerea utilizării a unuia sau altuia dintre aceste tipuri de sisteme depinde de factorul care controlează rata de transport a medicamentului şi eliberarea acestuia în circulația sistemică.

Scanned with OKEN Scanner

Fig.4.1. Alcătuirea sistemelor transdermale



Sistemele transdermale de eliberare a substanțelor bioactive au în general structuri polimerice multilamelare care cuprind între două straturi diferite un rezervor de medicament sau o matrice. Stratul posterior al acestor sisteme este confecționat dintr-un strat impermeabil de polimer sau este metalic, în scopul de a preveni eventualele pierderi de p.a. Celălalt strat

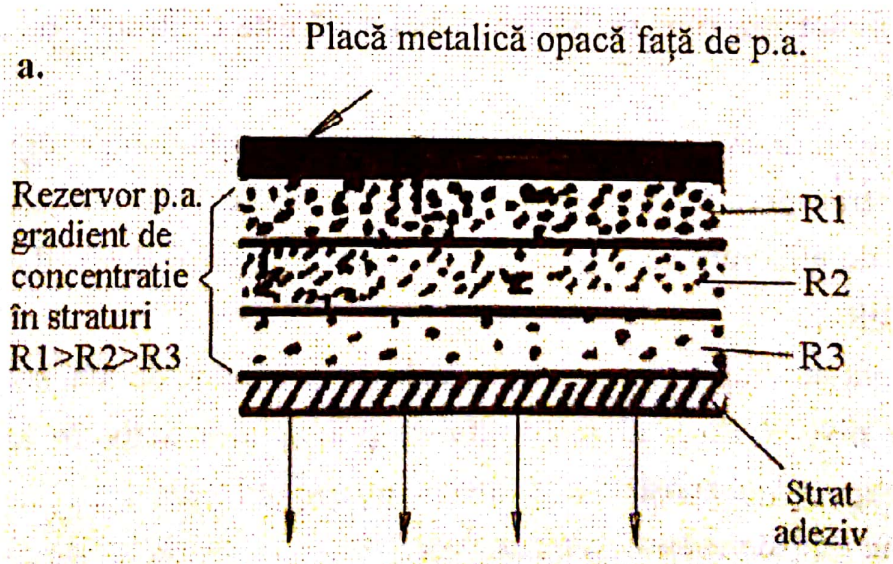
Scanned with OKEN Scanner

poate funcţiona ca membrană de control a eliberării principiului activ sau poate avea rol adeziv.

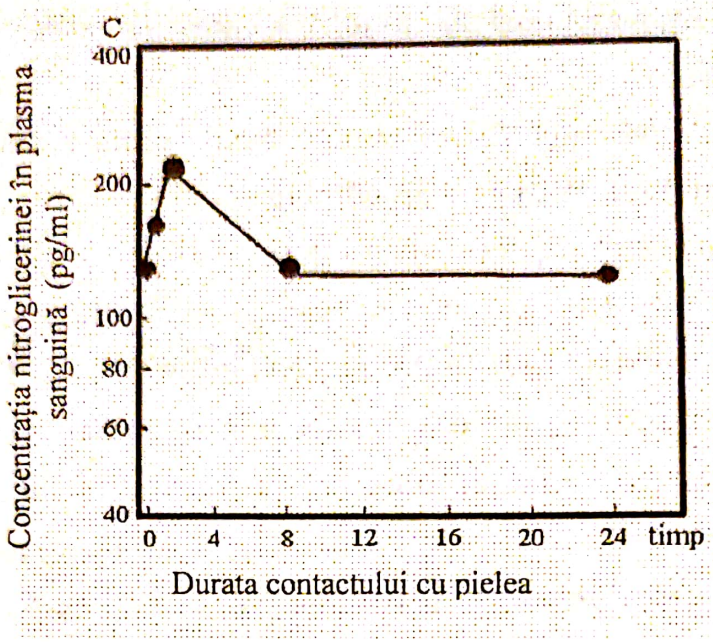
Sistemele adezive sunt foarte simple fiind formate din dintr-un strat adeziv şi dintr-un polimer în care se află înglobată substanţa biologic activă. Acest strat este şi rezervor pentru substanţa activă dar şi mijlocul prin care se "prinde" de piele. Sistemele pot conţine o cantitate mare de medicament, uneori în exces (de exemplu Nitrodur pentru nitroglicerină). Totuşi gradul de control oferit de aceste forme este relativ mic de multe ori, stratul cornos fiind cel care reglează rata de absorbţie a substanţei biologic active în organism.

Sistemele stratificate sunt ceva mai complexe decât cele adezive, utilizând polimeri diferiţi pentru funcţiile de rezervor a substanţei active, respectiv pentru cea de adezivă (după aplicare pe dermă, substanţa biologic activă se va distribui în toate aceste straturi conform cu afinităţile sale faţă de mediile diferite ale matricii şi a stratului adeziv).

Fig. 4.2.
a. Reprezentarea schematică a unui sistem stratificat;
b. Evoluţia concentraţiei (C, pg/ml) nitroglicerinei în plasma sanguină în funcţie de durata contactului sistemului transdermal cu pielea (ore).



b.



Matricea poate fi alcătuită din mai mult de un singur substrat, cu substanță biologic activă distribuită în ele astfel încât să asigure calitățile optime ale sistemului (figura 4.2.). Există şi forme în care lipseşte stratul adeziv, matricea intrând în contact direct cu pielea, iar patch-ul este menținut pe piele printr-un adeziv periferic.

Procesul de difuzie a unui principiu activ dizolvat sau dispersat în faza polimerică a unui sistem monolit este în funcție de natura şi structura polimerului. Aceste caracteristici determină rata de eliberare, în timp ce în cazul sistemelor rezervor rezistența difuzională este controlată de membrana polimerică.

Dacă se notează cu R_{ST} suma rezistențelor difuzionale din interiorul sistemului transdermal, respectiv cu R_{SC} pe acelea din stratum corneum atunci rata de eliberare va fi determinată de R_{ST} în cazul $R_{ST}>>R_{SC}$ şi de R_{SC} când $R_{SC}>>R_{ST}$.

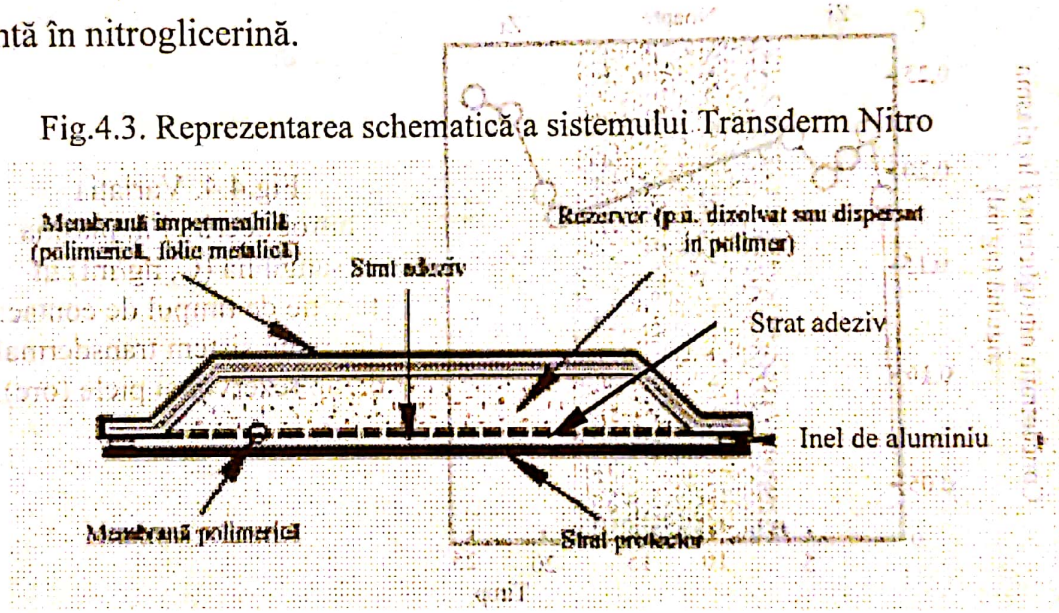
Alegerea în terapie a unuia dintre cele două sisteme de mai sus se face în funcție de nivelul dorit al concentrației principiului activ în sânge şi de indicele terapeutic al substanței medicamentoase utilizate.

4.2. Sisteme transdermale de tip rezervor

Scanned with OKEN Scanner

Sistemele rezervor au fost produse pentru prima dată de corporația Alza. Aceste sisteme sunt alcătuite dintr-un rezervor închis al substanței biologic active, o membrană polimerică ce separă rezervorul de stratul adeziv care, la rândul lui este de origine polimerică diferită de membrană. Membrana are rolul de control a ratei de eliberare. Transderm Nitro al firmei Ciba Geigy este un exemplu tipic de sistem transdermal de eliberare controlată a nitroglicerinei utilizat în terapia anginei pectorale. Rezervorul de medicament este o dispersie de nitroglicerină în silicon fluid şi este încapsulat între o membrană polimerică sintetică şi o alta alcătuită dintr-un copolimer etilenvinilacetat, permeabilă pentru substanța medicamentoasă (figura 4.3.). Particulele dispersiei au rolul de a asigura fazei lichide o concentrație constantă în nitroglicerină.

Fig.4.3. Reprezentarea schematică a sistemului Transderm Nitro



În acest tip de sistem rata de eliberare a medicamentului (M) este dată de relația:

$$M = \frac{D\,S\,K\,\Delta C}{d_m} \qquad (4.1.)$$

unde:
D - viteza difuziei p.a. prin membrană; S – suprafața membranei; K – coeficientul de distribuție în sistem al p.a.; ΔC – diferența de concentrație în p.a. dintre rezervor şi mediul exterior adiacent membranei; d_m – grosimea membranei.

Scanned with OKEN Scanner

Eliberarea p.a. de către un astfel de dispozitiv respectă o cinetică de ordinul zero atâta timp cât ΔC rămâne constantă. În cazul în care rata eliberării principiului activ nu este constantă atunci cinetica eliberării este de ordinul întâi. Notând volumul rezervorului sistemului cu V, cantitatea de medicament eliberată la momentul zero şi cu t timpul, rata eliberării poate fi calculată cu următoarea formulă:

$$M = \frac{M_0 \, S \, D \, K}{V \, d_m} \exp\left(-\frac{SDKt}{Vd_m}\right) \qquad (4.2.)$$

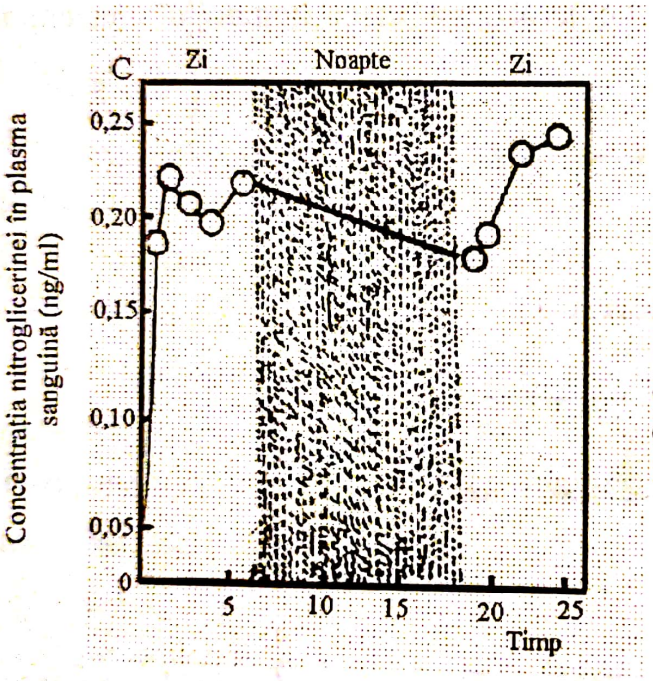


Fig.4.4. Variaţia nitroglicerinei în plasma sanguină (C, ng/ml) în funcţie de timpul de contact dintre un sistem transdermal de tip rezervor şi piele (ore).

4.3. Sisteme transdermale monolit

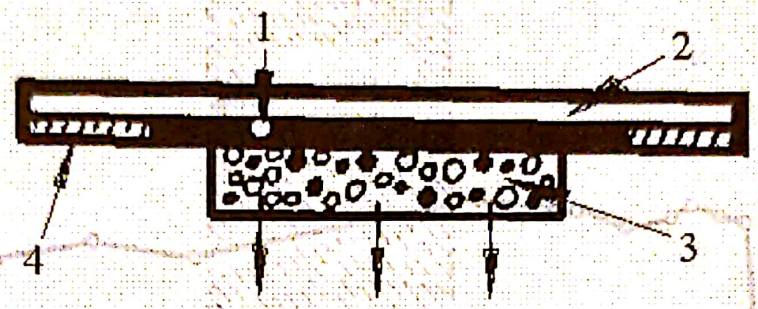
Sistemele transdermale monolit, numite şi adezive, includ principiile active într-o matrice polimerică prin dizolvare sau prin dispersare. Cele două tipuri constructive diferă în esenţă prin cantitatea de p.a. pe care o conţin. Soluţiile solide sunt la nivelul limită determinat de limita de saturaţie, în timp ce dispersiile conţin cantităţi mult mai mari de substanţe bioactive sau de precursori medicamentoşi.

Scanned with OKEN Scanner

În figura 4.5. sunt redate schematic două sisteme monolit iar în figura 4.6. sunt redate nivelele atinse de concentrațiile în plasma sanguină a nitroglicerinei (ng/ml) în funcție de timpul de contact al sistemelor cu piele exprimat în ore.

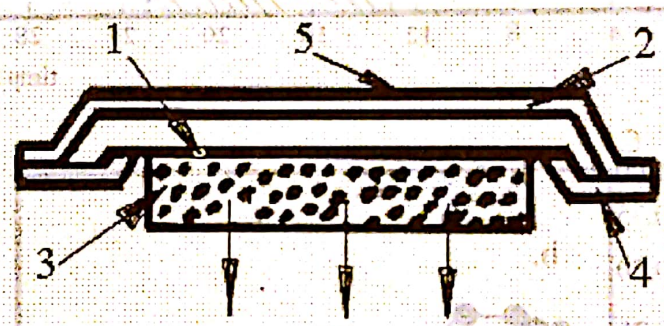
Fig.4.5. **a.** Sistem monolit soluție solidă; **b.** Sistem monolit dispersie.

a.



1- disc de aluminiu; 2- strat adeziv (spumă); 3- rezervor microscopic de medicament; 4- ramă adezivă.

b.



1-folie de aluminiu; 2- perete polimeric impermeabil pentru medicament; 3- rezervor de medicament (matrice polimerică); 4- ramă adezivă; 5- strat absorbant.

Pentru sistemele transdermale conținând principiul actic dizolvat în polimer rata eliberării poate fi calculată cu următoarea formulă:

$$M = M_0 \left(\frac{D}{\pi \, t \, l^2} \right)^{1/2} \qquad (4.3.)$$

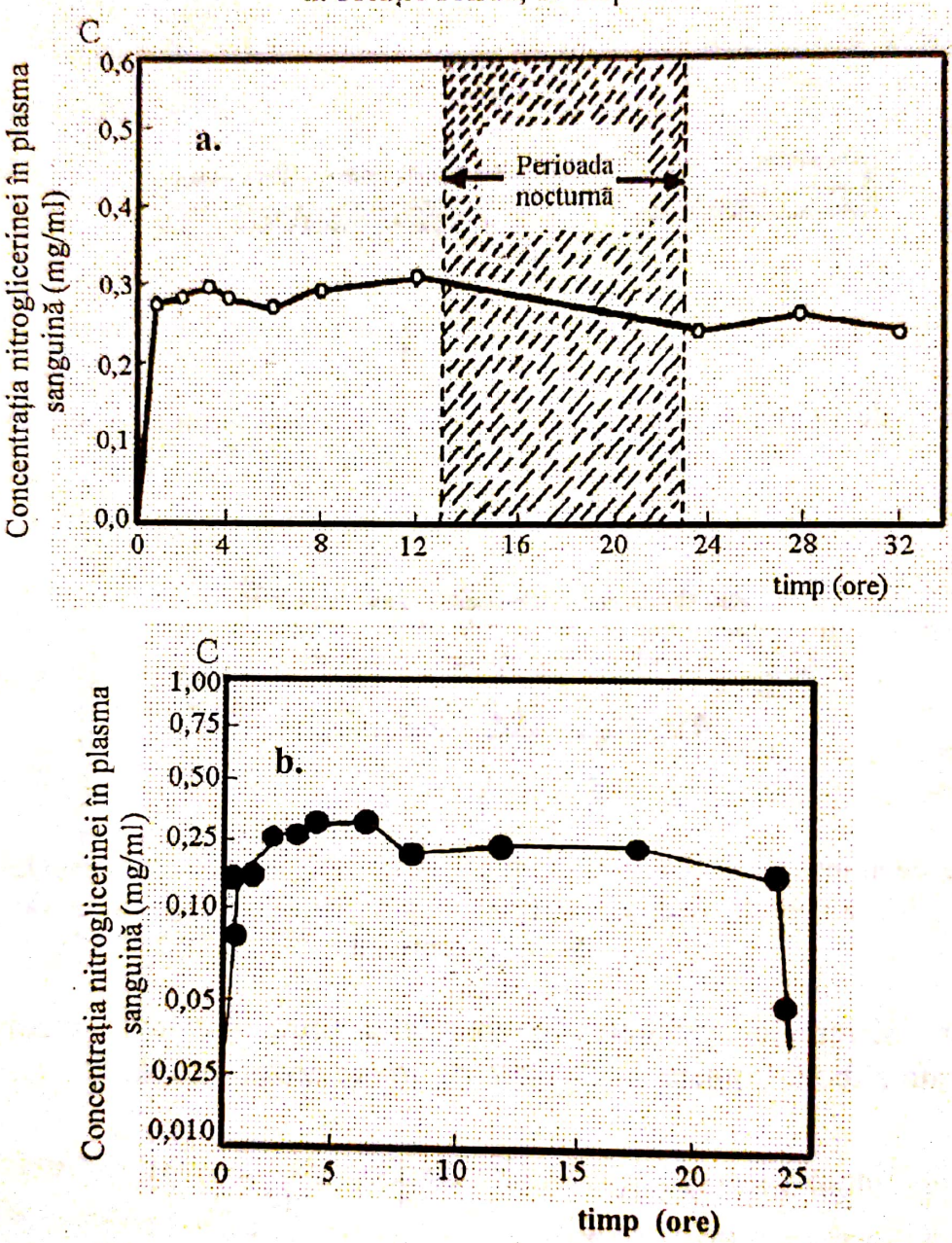
iar pentru sistemele utilizând dispersii în matrici polimerice relația utilizată este următoarea:

$$M = S \left(\frac{D \, C_S \, C_0}{2t} \right)^{1/2} \qquad (4.4.)$$

Scanned with OKEN Scanner

unde: C_S – concentrația p.a. la saturație; C_0 – concentrația inițială a p.a.

Fig.4.6. Variația nitroglicerinei în plasma sanguină (C, ng/ml) în funcție de timpul de contact dintre un sistem transdermal și piele (ore).
a. soluție solidă; **b.** dispersie.



4.4. Controlul ratei de eliberare a substanței biologic active

Unul dintre cele mai evidente scopuri în folosirea pielii ca rută de administrare este eliminarea sau reducerea, pe cât posibil, a variației

farmacocineticii şi farmacodinamiei apărute ca urmare a diferenței în absorbție. De aceea, dacă sistemul de eliberare controlează rata de absorbție a substanței biologic active în corp, atunci doar variabilitatea în clearance rămâne un factor care să influențeze concentrația în plasmă.

Pe piață au apărut diverse sisteme pentru acelaşi medicament. S-au făcut experimente cu patch-uri cu nitroglicerină produse de firme concurente în vederea testării capacității lor de a elibera controlat substanța activă.

Tabelul 4.1.

Sisteme transdermale cu nitroglicerină

Sistem	Conținutul în substanță biologic activă (mg)	Aria (cm^2)	Rata de eliberare (mg/h)
Nitrodur	80	20	0,4
Deponit	32	32	0,4
Transderm-nitro	50	20	0,4

Chiar dacă sunt aceste diferențe între dęsign-urile lor, a suprafețelor lor de contact şi a coținuturilor lor în substanță activă aceste patch-uri sunt bioechivalente.

Întrebarea care se pune este dacă aceste trei tipuri de sisteme transdermale eliberează sau nu controlat medicamentul în organism. S-au realizat experimente extrem de simple pentru a se afla răspunsul la această întrebare (figura 4.7.).

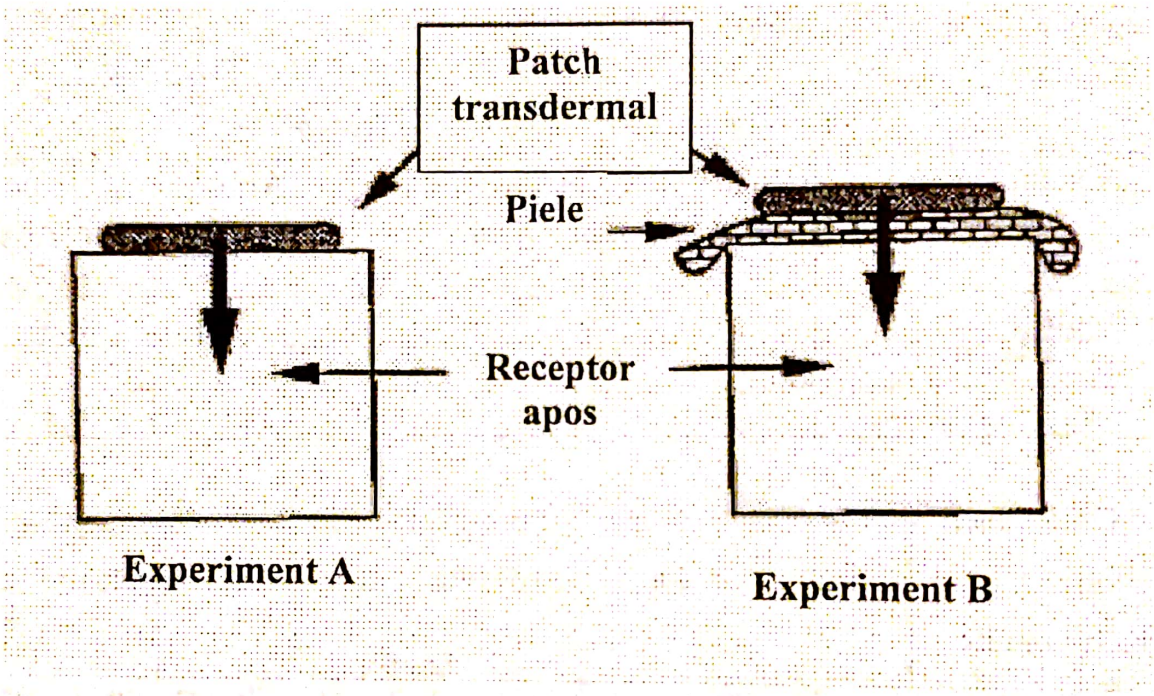
În prima experiența (A), substanță biologic activă eliberată din sistem direct într-o soluție apoasă receptoare este măsurată în funcție de timp (putem extinde la corpul uman acest experiment, pentru zonele în care nu există barieră cornoasă).

În al doua experiență (B), substanța biologic activă este eliberată în acelaşi sistem receptor apos, însă interpunându-se pielea între patch şi sistemul receptor. Dacă patch-ul are o rată de eliberare perfect controlată, în

Scanned with OKEN Scanner

receptor ar trebui să se elibereze substanța biologic activă, în ambele cazuri, cu o rată identică. Pe de altă parte, dacă în experimentul B substanța biologic activă se eliberează mai lent decât în experimentul A, înseamnă că pielea are un rol deosebit în eliberarea medicamentelor pe această cale.

Fig.4.7. Două experimente simple pentru observarea modului de eliberare a substanței medicamentoase dintr-un pach transdermal



Nitrodur are o rată mai mare în absența pielii decât în prezența ei (76mg în cazul A, în 24ore şi 10mg, în cazul B, tot în 24ore). Din potrivă, pentru Deponit, cantitățile ajunse la receptor, în 24 ore, în ambele cazuri sunt aproape identice, 11mg, respectiv, 10mg. Transderm-Nitro probează o scădere de aproape 22mg de la un experiment la altul.

Trebuie notat că toate trei sistemele au o rată de eliberare de 0,4 mg/h (~10 mg/zi) când sunt aplicate pe pielea intactă. Diferențele observate între valorile obținute pentru experimentul A revelează faptul că, fiecare sistem controlează diferit transportul prin piele.

Scanned with OKEN Scanner

Se cere a fi determinate fracţiile de control a eliberării substanţei biologic active din patch şi la nivelul pielii. La fiecare moment de timp (t), F_{patch} este dată de cantitatea de substanţă biologic activă eliberată în receptor în experimentul B ($Q_{B,t}$) raportată la cea transportată în experimentul A ($Q_{A,t}$):

$$F_{patch} = Q_{B,t} / Q_{A,t} \qquad (4.5.)$$

Cu alte cuvinte, după cum se vede, când $Q_{A,t} = Q_{B,t}$, atunci $F_{patch} = 1$, iar controlul este perfect. Din contră, când $Q_{B,t} < Q_{A,t}$, atunci $F_{patch} < 1$, iar pielea are o contribuţie majoră la cinetica eliberării medicamentului.

Calcularea fracţiei F_{piele}:

$$F_{piele} = 1 - F_{patch} \qquad (4.6.)$$

Folosind rezultatele de la cele trei sisteme cu nitroglicerină la 24 ore, se poate determina controlul relativ al eliberării medicamentelor din sisteme diferite conform tabelului 4.2.

Tabelul 4.2.

Controlul eliberării substanţei biologic active din sisteme transdermale cu nitroglicerină.

Sistem	$Q_{A,24}$ (mg /cm^2)	$Q_{B,24}$ (mg / cm^2)	F_{patch}	F_{piele}
Nitrodur	3,78	0,50	0,13	0,87
Deponit	0,35	0,31	0,87	0,13
Transderm-Nitro	1,11	0,50	0,45	0,55

Este elogvent faptul că Deponit are un control considerabil mai exact asupra ratei de intrare a nitroglicerinei, în timp ce Nitrodur lasă ca funcţia de barieră a pielii să fie determinantă pentru absorbţia substanţei biologic active în circulaţia sistemică. Transderm-Nitro, deşi are o membrană pentru controlul ratei de eliberare, în parte responsabilitatea controlului eliberării între patch şi piele. Deponit are un control mai bun asupra eliberării medicamentului.

Scanned with OKEN Scanner

Diferențele de suprafață de contact dintre aceste sisteme și piele caracterizează și ratele specifice de eliberare. Rata maximă pentru care nitroglicerina poate difuza în pielea umană este de ordinul 20 $\mu g/cm^2/h$. Din acest motiv, dacă rata de eliberare la țintă este de 0,4mg/h (400µg/h), atunci se impune o suprafață de contact de 20 cm^2.

Această constatare nu lasă prea multe șanse de a construi un element de control al ratei de eliberare în patch, de vreme ce unul necesită fluxul maxim posibil prin piele (substanță biologic activă trebuie să fie la activitatea sa termodinamică maximă) pentru a atinge concentrația plasmatică maximă. Acesta este cazul formei Nitrodur. Pe de altă parte, dacă se folosește o arie mai mare ($40cm^2$), atunci controlul ratei va depinde doar de patch în principal, de vreme ce nitroglicerina este prezentă pe piele cu $10\mu g/cm^2/h$. Rata de atingere a țintei de 0,4mg/h se menține, dar patch-ul este cel care controlează eliberarea și nu pielea. Aceasta este strategia pentru Deponit.

În concluzie, este evident că eliberarea pe cale transdermală este în foarte mare măsură determinată de aria de contact dintre patch și piele. Într-adevăr, concentrația terapeutică se atinge nu prin modificări ale formulării, ci mai degrabă prin modificări ale dimensiunilor sistemului.

Este de asemenea vizibil că eliberarea nu depinde de încărcarea patch-ului cu substanță activă, în special, când $F_{patch} < F_{piele}$. Substanța activă trebuie să fie în cantitate suficientă, totuși, pentru a asigura eliberarea pentru perioada de timp dorită și pentru a susține o forță difuzională eficientă. Trebuie menționat că design-ul unui patch nu garantează un control perfect al eliberării și chiar prezența unei membrane cu rol de reglare a acestui proces nu garantează un succes de 100%.

Prin urmare, încărcarea cu substanță activă și mecanismul de eliberare nu sunt măsuri eficiente ale bioechivalenței.

Toate aceste considerente sunt valabile doar în condiții constante. Singura rezistență întâlnită de primele molecule la traversarea stratului cornos o reprezintă bariera difuzională. La aplicarea patch-ului există molecule care

Scanned with OKEN Scanner

aşteaptă la suprafaţa sa externă şi care devin instantaneu disponibile pentru transport. La extrema cealaltă, dacă un patch rămâne în contact cu pielea un timp suficient încât substanţa biologic activă să fie aproape în întregime eliberată din sistem, atunci controlul eliberării medicamentului ţine doar de patch (gradientul de concentraţie este atât de mic încât eliberarea substanţei biologic active din patch trebuie să fie mai mică decât rata sa de transport prin stratul cornos).

În sistem rămân cantităţi de substanţă biologic activă neeliberate chiar şi în momentul înlocuirii lui cu altul nou.

4.5. Criterii de alegere a substanei medicamentoase

Substanţa medicamentoasă trebuie să atingă o concentraţie plasmatică suficientă pentru a produce un efect terapeutic optim cu o toxicitate minimă.

În general se pun următoarele întrebări: prin ce mecanism şi la ce rată medicamentul intră în organism; care este calea optimă de administrare; cum se distribuie medicamentul în oragnism; ce factori influenţează nivelul medicamentului nelegat în acţiunea şi în metabolizarea lui; cum influenţează concentraţia plasmatică a medicamentului efectele lui terapeutice şi toxicitatea lui; cum este metabolizat medicamentul; cum influenţează metabolizarea lui activitatea biologică; care sunt eventuale interacţiuni cu alte medicamente; cum este eliminat din organism şi dacă nu este depozitat în alte organe.

În timpul ultimului deceniu sistemele transdermale au intrat tot mai mult în atenţia cercetătorilor constatând adesea că medicamentele administrate pe căi obişnuite sunt toxice sau ineficiente ori au fluctuaţii largi în concentraţii în interiorul corpului uman.

Administrarea substanţelor biologic active pe cale transdermală permite menţinerea unei concentraţii constante în sânge de-a lungul unei perioade mai mari de timp, de obicei între 1 şi 7 zile. Teoretic cele mai importante avantaje

Scanned with OKEN Scanner

ale acestei căi de administrare sunt: reducerea efectelor secundare datorate optimizării în timp a concentrației medicamentului în sânge, creşterea duratei de acțiune precum şi o cooperare totală a pacientului care nu mai trebuie să se îngrijească de un orar al dozelor. De asemenea, există şi posibilitatea măririi biodisponibilității multor medicamente, prin evitarea contactului cu mucoasa gastrică şi a pasajului hepatic.

Alegerea acestei căi de admnistrare pentru diverse substanțe medicamentoase este una dificilă fiind necesară luarea în considerație a câtorva aspecte caracteristice ei şi corpului uman. Tabelul 4.3. prezintă cele mai importante criterii de care trebuie să se țină seama în alegerea medicamentelor. În mod curent, doar câteva substanțe biologic active pot fi administrate pe această cale datorită următoarele trei limitări: impermeabilitatea pielii, intoleranța pielii față de aceste p.a., lipsa unei utilități clinice.

Tabelul 4.3

Criterii importante în alegerea medicamentelor

1. Permeabilitate adecvată prin piele: - substanțe biologic active cu greutate moleculară mică; - substanțe biologic active cu punct de topire mic; - substanțe biologic active cu solubilitate moderată în lipide şi în apă
2. Toleranța pielii: - substanțe biologic active neiritante; - substanțe biologic active nonsensibilizante; - substanțe biologic active nemetabolizante
3. Utilitatea medicală adecvată: - necesitatea de tratament îndelungat; - necesitatea cooperării pacientului; - necesitatea de a reduce efectele secundare asupra țesuturilor nevizate de tratament.

Scanned with OKEN Scanner

După cum se ştie stratul cornos al pielii este o adevărată barieră în calea diverşilor agenţi chimici sau fizici. Totuşi există câteva substanţe biologic active care pot trece prin acest strat în cantităţi suficiente din punct de vedere terapeutic.Cu ajutorul modelelor matematice ale pielii şi a datelor experimentale se poate face o predicţie a rezonabilă asupra pătrunderii medicamentelor diverse prin ea.

Există substanţe care au capacitatea de a creşte permeaţia prin piele. Pielea îndeplineşte diverse funcţii, cele mai importante în administrarea transdermală fiind reglarea termică şi hidrică, rezistenţa la stresul mecanic, protecţia organismului de materiale toxice.

Protecţia împotriva diverşilor compuşi toxici se manifestă prin *iritaţie şi sensibilizare*. Iritarea pielii (dermatitele de contact rezultă) este cauzată de atacul direct a acestor substanţe asupra membranelor celulare sau a nucleilor. Pentru autoreoarare este iniţiată cascada acidului arahidonic de unde prin căile lipooxigenazei şi ciclooxigenazei rezultă leucotriene, prostaglandine şi tromboxani. Sensibilizarea sau dermatitele de contact implică o activitate imunologică mediată de diferitele tipuri de celule precum cheratinocitele, celulele Langerhans, macrofage care sintetizează diferite tipuri de citokine. Este de aşteptat ca peste 80% din substanţele medicamentoase ca antihistaminicele sau beta blocantele, antiasmaticele şi antiinflamatoarele nesteroidiene să producă iritare sau reacţii de sensibilizare.

Utilitatea clinică este o altă posibilă limitare. Este imperios necesar ca un medicament propus a fi administrat transdermal să aibă o aplicabilitate clinică importantă. Dintre produsele transdermale ce se află pe piaţă care evită pasajul hepatic menţionăm nitroglicerina cu efect prelungit de 7 zile, clonidina (în cazul căreia se diminuează efectele secundare toxice asupra sistemului nervos central).

Sunt importante, de asemenea şi interacţiunile dintre ambalajul medicamentelor şi substanţa activă şi cu pielea. După ce a fost absorbită substanţa

Scanned with OKEN Scanner

biologic activă, suferă transformări specifice în timpul transportului prin organism.

4.6. Componența sistemelor transdermale

Așa cum s-a arătat în subcapitolele 4.2. și 4.3., pentru obținerea de sisteme transdermale sunt necesare, în afara substanței medicamentoase, o serie materiale care alcătuiesc părțile componente ale sistemului. Compușii macromoleculari naturali, naturali modificați sau sintetici sunt utilizați în formarea matricei compozite (rezervorul de medicament), a membranei de control și a straturilor adezive.

Câteva dintre criteriile care stau la baza selecționării polimerilor în vederea realizării de matrici compozite polimer-medicament cuprind următoarele: solubilitatea p.a. în polimer, difuzibilitatea p.a. prin polimer, compatibilitatea polimerului cu p.a., excipienți, modificatori de difuzie și de permeabilitate a pielii, capacitatea de încărcare a polimerului cu p.a., biocompatibilitate, caracteristici mecanice adecvate, condiții tehnice de obținere simple cu preț de cost redus, versalitate, tipul de sistem transdermal (rezervor sau monolit), normele privind gradul de toxicitate (FDA), puritate (absența monomer și catalizator) etc.

Dintre polimerii utilizați la obținerea de sisteme transdermale literatura de specialitate citează următorii: policlorura de vinil și copolimerii ai acesteia, poliamide, poliacrilați, poliizobutilenă, polisiloxani, gelurile hidrofile, esteri de celuloză, colagene etc.

Matricile tip gel hidrofil sunt utile sistemelor de dozare controlată a medicamentelor pentru că pot atinge niveluri ridicate și reproductibile ale concentrației principiului activ, prezintă o permeabilitate și o difuzibilitate corespunzătoare a p.a. din matrice.

Hidrogelurile, ca entități materiale cu structură tridimensională, sunt alcătuite din polimeri hidrofili inter-reticulați și apă (30-95% apă), probând

Scanned with OKEN Scanner

proprietăți intermediare lichidelor și solidelor. Hidrofilia este datorată prezenței grupelor: -OH, -COOH, -$CONH_2$, -SO_3H, etc. Natura legăturilor intercatenare poate fi covalentă, ionovalentă sau ca o rezultantă a tuturor legăturilor de hidrogen.

Gelurile hidrofile sunt întotdeauna utilizate atunci când se dorește o matrice care să prezinte conductivitate electrică, indispensabilă obținerii de sisteme transdermale iontoforetice.

Gelurile polimerilor sintetici sunt preparate uzual prin copolimerizarea radicalică a monomerilor hidrofili cum ar fi: N-vinil-2-pirolidonă, 2-hidroxi-etil metacrilat și acril amidă cu monomeri difuncționali cum ar fi de exemplu etilen glicol, etilen glicol dimetacrilat, sau N,N'-metilen-bis-acrilamidă, în mediu apos și în absența oxigenului. Echilibrul conținutului de apă a hidrogelului variază în funcție de gradul de reticulare și de raportul structural hidrofil-hidrofob.

Sistemul principiu activ-hidrogel poate fi obținut prin încorporarea p.a. în amestecul apos de polimerizare sau prin amestecul hidrolelului cu o soluție concentrată în p.a., când acesta poate fi închis fizic sau legat covalent în interiorul gelului format. Gradul de fixare depinde de mărimea și structura spațială a moleculelor substanței medicamentoase. Cu cât mărimea acestora crește cu atât capacitatea de fixare a acestora de către hidrogel scade.

Viteza de legare a principiului activ depinde depinde de factori intrinseci și extrinseci, fiind specifică fiecărei substanțe medicamentoase în parte. Difuzibilitatea principiului activ din matrice scade odată cu creșterea gradului de reticulare și cu diminuarea conținutului de apă.

Membrana de control a sistemelor transdermale reprezintă o barieră selectivă de restricționare a transportului anumitor specii moleculare dinspre rezervor spre piele.

Membrana de control al eliberării principiului activ este alcătuită dintr-un film polimeric subțire (policlorură de vinil, poliamide, polimeri și copoli-meri olefinici, esteri ai celulozei, colagen), rezistent în contițiile chimice, termice

Scanned with OKEN Scanner

şi mecanice ale procesului de fabricaţie. Substanţele medicamen-toase pot traversa membranele de control prin difuzie sau prin pori.

Membranele polimerice dense, lipsite de pori permanenţi, funcţionează după modelul difuziei, transportul principiului activ prin filmul polimeric omogen reprezentând o funcţie de mai mulţi parametri: gradul de orientare a lanţurilor, polaritae, cristalinitate, compactizare.

Permeabilitatea acestor membrane este mai ridicată în zonele amorfe decât în acelea cristaline respectiv în zonele polare faţă de cele apolare. Creşterea polarităţii, prin copolimerizări adecvate, conduce implicit la mărirea solubilităţii şi a difuzibilităţii selective pentru compuşi polari a acestor membrane de control.

Semipermeabilitatea *membranelor micoporoase* este conferită de structura lor spaţială internă. Diametrul mediu al porilor este de câteva ori mai mare decât ordinul mărime al moleculelor ce urmează să migreze spre piele, fiind cuprins în intervalul 3-100 μm. Moleculele mici şi lanţurile liniare prezintă o permeabiliate mai mare prin aceste membrane comparativ cu moleculele mari, respectiv cu lanţurile ramificate. Materialele comune utilizate pentru fabricarea membranelor poroase sunt poliolefinele şi esterii de celuloză.

Componenta adezivă a sistemului are rolul de a adera şi apoi de a se fixa pe piele. În cazul adezivilor sensibili la presiune, care probează proprietăţi vâscoelastice tipice, legătura dintre sistemul transdermal şi piele implică o pseudocurgere la suprafaţa pielii a substanţei adezive sub acţiunea unei presiuni exterioare. La încetarea acestei presiuni patch-ul aderat se fixează de piele.

Dintre materialele polimerice utilizate ca adezivi sensibili la presiune se numără copolimeii acrilici, polisiloxanii şi poliizobutilenele. Dintre aceşti compuşi sunt aleşi cei ce nu provoacă iritarea sau sensibilizarea pielii, asigură sistemului transdermal aderenţă corespunzătoare în condiţii normale de activitate a pacientului şi o îndepărtarea uşoară a patch-ului, aderenţa nu este

Scanned with OKEN Scanner

afectată de excipienți, nu modifică difuzia proiectată a principiului activ sau rata sa de eliberare etc.

În general, materialele adezive sunt copolimeri ai C_4-C_8 acrilați de alchil cu monomeri polari cum ar fi: acid acrilic, acrilonitril, acrilamide alături de metilmetacrilați, etilacrilați, acetat de vinil etc. Sunt materiale unicomponent. Balansarea optimă dintre adezivitate şi coezivitate se atinge prin modularea următorilor factori: masă medie moleculară, temperatura tranziției vitroase, polaritate şi natura reticulărilor (ionice, covalente).

Poliizobutilenele, ca materiale adezive sensibile la presiune, prezintă flexibilitate ridicată şi sunt amestecuri de mase moleculare diferite putând conține politerpene sau agenți de plastifiere parafinici lichizi. Polisiloxanii prezintă alături de biocompatibilitate şi un înalt grad de permeabilitate la vapori.

5. Permeabilitatea pielii. Modele matematice.

În afară de stratul cornos care este o barieră fizică majoră, pielea se comportă şi ca o barieră metabolică eficientă capabilă să degradeze o mare varietate de compuşi. Metabolismul cutanat poate fi considerat ca având efectul unui prim pasaj şi poate fi o sursă semnificativă de clearance pentru xenobiotice. De exemplu, în cazul țesutului cutanat al maimuțelor, prin metabolism se pierde aproximativ 20% din biodisponibilitatea nitroglicerinei administrate transdermal, iar în cazul buprenorfinei se produce o "epurare" completă.

Modelarea matematică este un mijloc util pentru a înțelege cinetica proceselor metabolice din țesutul viu şi pentru a evalua factorii care afectează metabolismul şi transportul relativ de masă.

Scanned with OKEN Scanner

Deoarece difuzia şi metabolismul în ţesuturile viabile sunt în directă legătură, fluxul substanţelor aplicate pe piele va fi influenţat atât de transportul masic cât şi de parametrii metabolismului.

Modelele descrise în literatură explică întrepătrunderea dintre transportul masic şi metabolism, luând în considerare şi datele experimentale. De obicei se bazează pe legile difuziei ale lui Fick alături de reacţiile metabolice de ordinul întâi. În timp ce pentru concentraţiile scăzute ale substanţei biologic active se foloseşte cinetica de ordinul întâi, pentru concentraţiile mai mari, ca şi pentru cantităţi mici ale enzimelor de la nivelul pielii, se foloseşte cinetica neliniară a saturaţiei.

În ambele cazuri cele mai potrivite ecuaţii sunt acelea care exprimă legile lui Fick şi ecuaţia Michaelis – Menten.

Mai întâi se propune un model pentru interpretatea cantitativă a transportului de masă constant şi a metabolismului din straturile celulelor active metabolic, folosind *cinetica reflectată*, de exemplu cu un perete impermeabil pe o parte ţesutului rezultând reflecţia fluxurilor substratului şi metaboliţilor.

Modelul se bazează pe difuzia lui Fick în combinaţie cu ecuaţiile Michaelis – Menten pentru a justifica descompunerea metabolică.

Se consideră că stratul cornos este un compartiment secund în vederea analizării transportului de masă şi a metabolismului unei substanţe.

Se va ilustra influenţa transportului de masă variabil şi a parametrilor metabolici (D, grosimea ţesutului - L, coeficientul de partiţiei P şi rata metabolică maximă V) asupra gradientului de concentraţie prin ţesutul metabolic. Se vor prezenta fluxurile corespondente lae substratului intact care vor fi eliberate prin ţesut funcţie de concentraţia substratului donor.

Scanned with OKEN Scanner

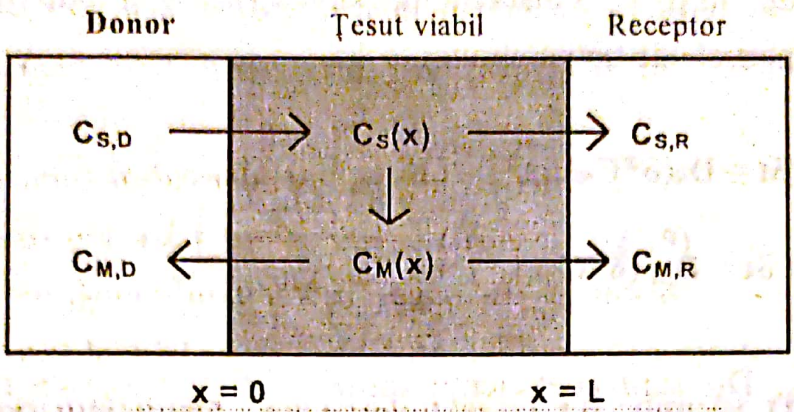


Fig. 5.1. Schema modelului fizic

5.1. Considerații teoretice

Se consideră un strat $0 \leq x \leq L$ de țesut metabolic de grosime L. La punctul x=0 interfața donor-țesut stratul este în contact cu o soluție omogenă de substrat donor de concentrație Cs,d. La poziția x = L interfața țesut – receptor țesutul este în contact cu o soluție omogenă de soluție receptoare. Substratul se împrăștie în țesut conform cu P, coeficientul de partiție şi trece în țesut prin difuzie pasivă. Având la bază gradientul de concentrație metabolitul rezultata va difuzia atât în compartimentul receptor (R) cât şi în cel donor (D).

Se fac următoarele presupuneri:

- metabolismul are loc doar în țesut conform cineticii Michaelis-Menten;
- pentru simplificare distribuția enzimelor active în strat se presupune a fi omogenă;
- transportul de masă este unidimensional şi restrâns doar pe axa x;
- difuzia este constantă.

Schimbările în concentrația substratului C_S și a metabolitului C_M în țesut ca funcție de timp t și distanță x sunt date de următorul set de ecuații diferențiale parțiale de tip parabolic:

$$\delta C_S/\delta t = D_S(\delta^2 C_S/ \delta x^2) - (V_{max}\ C_S)/ (K_m + C_S) \qquad (5.1)$$

$$\delta C_M/ \delta t = D_M (\delta^2 C_M/x^2) + (V_{max}\ C_S)/ (K_m + C_S) \qquad (5.2)$$

unde: D_S, D_M sunt coeficienții difuziei eficace ai substratului b și ai metabolitului în țesut; V_{max} = rata metabolică maximă; K_m = constanta Michaelis.

Dacă nu există activitate enzimatică atunci $V_{max} = 0$, având loc doar o difuzie pasivă:

$$\delta C_S/\delta t = D_S(\delta^2 C_S/ \delta x^2) \qquad (5.3)$$

În codiții constante modificările de timp C_S, C_M sunt nule:

$$D_S(d^2 C_S/dx^2) - (V_{max}\ C_S)/ (K_m + C_S) = 0 \qquad (5.4)$$

$$D_M (d^2 C_M / dx^2) + (V_{max}\ C_S)/ (K_m + C_S) = 0 \qquad (5.5)$$

Se consideră că inițial nu există substanță biologic activă în țesut și nici metabolit, deci condițiile inițiale sunt:

$$C_M = 0 \qquad x=0 \qquad (5.6)$$

$$C_S = C_M = 0 \qquad x=1 \qquad (5.7)$$

Concentrația substratului la x=0 este egală cu concentrația substratului din compartimentul donor $C_{S,D}$, corectat de coeficientul aparent de partiție P:

$$C_S = PC_{S,D} \qquad x=0 \qquad (5.8)$$

În cazul unor doze infinite, se presupune că C este constant. Alternativ putem presupune că dependența în timp a C_S de donor scade datorită permeației prin substrat. În doze finite se poate face un model folosind

ecuațiile diferențiale ordinare.

Cantitatea Q de substrat (S) trece din zona donorului în aria A din țesut descrisă de:

$$Q_{S,D}(t) = -AD_S \int_0^t \left. \frac{dC_S(x,t)}{dx} \right|_{x=0} dt \qquad (5.9)$$

Cuplând ecuațiile diferențiale se obține o nouă condiție limită:

$$C_S(t) = P \frac{Q_{S,D}(t)}{V_D} \qquad (5.10)$$

unde: V_D este volumul soluției donoare

Cantitatea Q de substrat şi de metabolit care penetrează prin aria A încompartimentul donor şi receptor, poate fi obținută prin următoarele ecuații:

$$Q_{S,R}(t) = -AD_S \int_0^t \left. \frac{dC_S(x,t)}{dx} \right|_{x=L} dt \qquad (5.11)$$

$$Q_{M,D}(t) = AD_M \int_0^t \left. \frac{dC_M(x,t)}{dx} \right|_{x=0} dt \qquad (5.12)$$

$$Q_{M,R}(t) = -AD_M \int_0^t \left. \frac{dC_M(x,t)}{dx} \right|_{x=L} dt \qquad (5.13)$$

Aceste cantități cumulative pot fi evaluate numeric şi comparate cu datele experimentale. Gradienții de concentrație ai substratului şi metabolitului la

Scanned with OKEN Scanner

fiecare valoare a lui x, la care timpul t poate fi numeric generat de ecuațiile 5.1 şi 5.2. Gradienții de la interfețele x=0 şi x=L vor determina cantitatea şi direcția fluxurilor J ale substratului şi ale metabolitului:

$$J_{S,D} = -D_S \left.\frac{dC_S}{dx}\right|_{x=0} \quad (5.14)$$

$$J_{S,R} = -D_S \left.\frac{dC_S}{dx}\right|_{x=L} \quad (5.15)$$

$$J_{M,D} = -D_M \left.\frac{dC_M}{dx}\right|_{x=0} \quad (5.16)$$

$$J_{M,R} = -D_M \left.\frac{dC_M}{dx}\right|_{x=L} \quad (5.17)$$

Pentru a studia influența diverşilor parametri în condiții constante profilurile concentrațiilor substratului în țesut şi fluxurile substratului în compartimentul receptor, valorile parametrilor L, D, V_{max} şi P au fost variate separat.

Substratul şi metabolitul au aproximativ aceeaşi masă moleculară, coeficienții lor de difuzie se presupune a fi identici $D=D_S=D_M$. K_m se consideră a fi 7nmol/ml, apropiat fiind de valorile experimentale obținute de diverşi cercetători (tabelul 5.1).

Tabelul 5.1

L (μm)	D (cm^2/s)	V_{max} (μmol/molmin	P
5	10^{-5}	4	0,01
10	$\mathbf{10^{-6}}$	**8**	**0,1**
20	10^{-7}	16	1,0
100	10^{-8}	80	10,0

(Valorile standard sunt scrise îngroşat. C_S=300 nmol/ml)

Scanned with OKEN Scanner

Pentru o comparare mai bună a rezultatelor diverselor stimulări, se utilizează notațiile: $u=C_S(x)/(C_{S,D}P)$ şi $v=C_M(x)/(C_{S,D}P)$, iar distanța se notează cu $y=x/L$.

5.2. Simulări în condiții variabile

S-au fixat anumiți parametri legați de transportul de masă şi de metabolism. Acestea sunt în mare măsură conform cu experiențele realizate de cercetători cu culturi de celule HaCat şi cu piele umană excizată. Rata metabolică maximă s-a obținut a fi 9,106 μmol/min*ml, iar K_m=6,7 nmol/ml. Coeficienții de difuzie D eficientă pentru substratul Ala-MNA (Ala –4- metoxi, 2- naftilamida) şi metaboliții MNA au fost asumați a fi 1,3 $*10^{-4}$ cm^2/min, echivalent cu $2*10^{-6}$ cm^2/sec. Grosimea țesutului metabolizant a fost considerată ca fiind 10 μm pentru celulele HaCaT şi 40 μm pentru pielea umană excizată.

Testare numerică

Simularea numerică şi estimarea parametrică a rezultatelor sunt obținute prin intermediul unui program special EASY-FIT care permite identificarea parametrilor în sistemele dinamice, în special în sistemele unidimensionale, folosind cuplarea ecuațiilor diferențiale parțiale dependente de timp cu ecuații ordinare diferențiale. Pornind de la datele experimentale concentrația metaboliților şi substratului în donor şi receptor pentru variații în timp, se folosește metoda celor mai mici pătrate.

De obicei este necesar să micşorăm următoarea relație:

$$\sum_{k=1}^{r}\sum_{i=1}^{n}\left(h_k(n,t_i)-y_i^k\right)^2 \qquad (5.18)$$

Măsurătorile r şi n sunt disponibile.

Scanned with OKEN Scanner

Modelul funcţional h_k (n,t) depinde de vectorul parametru n, timpul variabil t dar şi de soluţiile ecuaţiilor parţiale diferenţiale corespunzând unor ecuaţii diferenţiale ordinare cuplate. Ideea este să se transforme setul de ecauţii parţiale diferenţiale într-un sistem de ecuaţii parţiale diferenţiale ordinare, prin aplicarea funcţiilor modelate luându-l în considerare şi pe x.

Intervalul de integrare este împărţit în puncte echidistante, iar prima şi a doua derivată parţială pentru $C_S(x,t)$ şi $C_M(x,t)$, ţinând cont şi de variabila x, sunt calculate printr-o interpolare polinomială cu valorile învecinate. Numărul punctelor de interpolare depinde de gradul polinomial selectat.

În final rezultatele sunt date prin codul DFNLP, combinaţie între ecuaţiile Gauss-Newton şi cvasi Newton pentru probleme grele.

Simulare în condiţii costante

Coeficientul de difuzie D

Gradienţii de concentraţie ai substratului funcţie de distanţă sunt ilustraţi în figura 5.2.a. La difuzivităţi înalte, $D=10^{-5}cm^2$, se obţine un gradient aproape liniar de concentraţie al substratului. Datorită fluxului de substrat care penetrează ţesutul, substratul metabolizat este repede înlocuit de altul nou. Fracţia din substanţă biologic activă metabolizată este minoră şi se obţine practic un gradient liniar.

Epidermul poate fi tratat ca o membrană pasivă descrisă de ecuaţia 5.3.

Pe de altă parte, la coeficienţi de difuzie mici (10^{-7}, 10^{-8}) concentraţia substratului scade uşor cu creşterea distanţei. În consecinţă datorită funcţiei sale de limitante de rată de pătrundere, difuzia restrânge accesul substratului proaspăt la ţesut. Totuşi majoritatea substratului va fi metabolizată în straturile superioare ale ţesutului fără ca nici o parte a substratului intact să ajnugă la suprafaţă, deci, doar metabolitul ajunge în circulaţia sistemică (sau în compartimentul receptor).

Fluxurile substratului în compartimentul receptor relativ la concetraţia

Scanned with OKEN Scanner

inițială a sa sunt ilustrate în figura 5.2.b. Acesta arată posibilitatea ca substratul să ajungă în circulația sistemică. Așa cum se indică în ecuațiile 5.14 și 5.15, influxul substratului în țesut $J_{S,D}$ și efluxul în compartimentul receptor, $J_{S,R}$ vor fi determinate de coeficientul de difuzie D și de gradientul de concentrație în țesutul donor și în țesutul receptor la interfață.

Pentru difuzivități înalte gradienții de concentrație la y=0, y=1 sunt practic la fel. Prin urmare, $J_{S,D}$ și $J_{S,R}$ sunt aproape egali, iar fracția metabolică ($F_M = 1-J_{S,R}/J_{S,D}$) va fi mică.

Pentru difuzivități joase (10^{-7}, $10^{-8}cm^2s^{-1}$) gradienții de concentrație la interfața țesut-receptor sunt practic nuli (figura 5.2.a), și tot substratul va fi metabolizat în straturile superioare ale țesutului, nici un flux măsurabil al substratului în receptor nu trece (figura 5.2.b). De vreme ce coeficientul de difuzie este legat de volumul molecular, substraturile labile ale moleculelor cu masă moleculară mare vor avea un coeficient de difuzie mic și șansă mică de a trece de țesutul metabolizant prin difuzie pasivă.

Coeficientul de partiție (P)

Figura 5.2.c prezintă gradienții concentrațiilor substratului în țesut pentru diferite valori variate ale coeficientului aparent de partiție. La valoarea 10 a lui P se obține o creștere de 10 ori a concentrației susbtratului la poziția x=0 în comparație cu concentrația donorului. La concentrații înalte în țesut (pentru valori înalte ale lui P) se presupune că enzimele sunt saturate și doar o fracție minoră a substratului este metabolizată. Totuși cu creșterea valorilor lui P o fracție mai mare de substrat permeabil este metabolizat și gradienții cresc.

Figura 5.2.d ilustrează fluxul corespondent funcție de concentrație bazate pe calculele de mai sus. Pentru P<0,01 gradientul de concentrație la interfața receptor țesut devine practic nul pentru toate substanțele biologic active metabolizate pe această cale în epiderm. Nu s-a observat nici un flux

Scanned with OKEN Scanner

al substratului intact în receptor.

Metabolismul devine neglijabil pentru coeficienți de partiție mari, prin urmare, fluxul de substrat în receptor este proporțional cu concentrația substratului în donor.

Fizic, stratul poate fi considerat ca o membrană pasivă conform ecuației 5.3. Datorită relației $C_{S,D}$*P=$C_S(0)$, parametrii $C_{S,D}$ și P sunt interconectați fizic. Prin urmare, figura 5.3.a și figura 5.3.b simulează valori ale concentrației substratului donor $C_{S,D}$ la un coeficient de partiție costant P. Deci pentru un transport transdermal eficient substratul are nevoie să se partiționeze bine în țesut și să fie administrat la concentrații înalte. Există o dependență a compusului la vehiculul selectat pentru eliberarea transdermală. Se sugerează utilizarea soluțiilor saturate sau suprasaturate.

Rata metabolică maximă (V_{max})

Acest parametru combină concentrația enzimei prezente cu felul în care enzima este gata să catalizeze reacția. Creşterea ratei metabolice maxime este legată de gradienții de concentrație. Efectul este similar cu cel observat anterior la coeficientul de difuzie.

Se observă o relație liniară între concentrația substratului şi distanță atunci când V_{max} este nul. În aceste condiții fluxul substratului în receptor este proporțional cu concentrația donorului (ecuația 5.3, figura 5.2.f).

Pentru valori medii ale V_{max} este obținută o relație neliniară între flux şi concentrația substratului. Aceasta se explică prin saturarea parțială a reacției enzimatice la concentrații mari ale substratului. La valori înalte selectate fluxul substratului intact în compartimentul receptor este nul.

Evident, dependența de activitatea metabolică a fluxului substanță biologic activăului eliberat către receptor este parțial sau total redusă. Totuși pentru substanță biologic activăuri susceptibile la clivaj enzimatic, eliberarea simultană a unui inhibitor enzimatic potrivit este binevenită (de exemplu prin iontoforeză). Aşa cum se vede în figura 5.2 creşterea concentrației

Scanned with OKEN Scanner

susbtratului va limita gradientul relativ al metabolismului prin saturarea enzimei.

Grosimea țesutului

Efectul grosimii țesutului asupra transportului de masă total este arătat în figura 5.3. Pentru straturi de de celule foarte subțiri (5μm) fluxul substratului în ele este suficient pentru a-l înlocui pe cel metabolizat cu substrat proaspăt. De aceea rezultă un gradient de concentrație liniar. Din contră, în straturi de grosime 100 μm, grosime tipică pentru partea viabilă a epidermului uman, se observă o cădere bruscă a gradientului de concentrație.

În țesuturile groase difuzia nu este suficient de rapidă pentru a înlocui rapid substratul metabolizat şi de aceea devine limitantă de viteză. Tot substratul va fi repede metabolizat în porțiunea superioară a țesutului şi, în cosecință va rezulta un flux neglijabil al substratului prin depăşirea grosimii de 20μm chiar la concentrații mari ale substratului. Prin urmare, substraturile foarte labile sunt dificil de eliberat doar prin difuzie pasivă.

Profilele de concentrație pentru grosimi variabile ale țesutului sunt ilustrate în figura 5.3.b. Cu creşterea grosimii țesutului peak-ul de concentrație metabolică creşte şi trece spre partea donoare.

În stratul de grosime 100μm tot substratul va fi degradat la metabolitul său în primii 20μm (figura 5.3.a). În restul țesutului nu mai este generat nici un fel de metabolit, iar transportul lui este făcut prin difuzie pasivă, rezultând un gradient de concentrație liniar cu creşterea distanței relative.

Relații fizice între parametrii transportului de masă şi metabolism

Aşa cum se indică în ecuațiile 5.14 şi 5.15 gradienții de concentrație de la interfața donor-țesut şi țesut-receptor determină fluxul substratului în țesut şi în afara lui.

Dacă α şi β sunt ≥ 0 influxul de substrat în țesut va fi identic cu efluxul indicând că nu este generat metabolit. Pentru a minimiza metabolismul,

diferența dintre cei doi gradienți trebuie să fie mică sau zero. Acesta va fi cazul valorilor mici ale lui L^2 (țesutul subțire, figura 5.3) sau ale lui V_{max}, ori valorilor mari ale coeficientului de difuzie D (substraturi ușor difuzabile) sau valori mari ale lui P (partiție mare în țesut).

Coeficientul adimensional β reprezintă rația constantei lui Michaelis-K_m, (concentrația substratului ce corespunde unei viteze egale cu jumătate din valoarea ei maximă), raportată la concentrația substratului la interfața țesut – donor. Cu creșterea valorilor lui $C_{S,D}P$ spre infinit expresia din dreapta ecuației 5.19 va tinde la 0, indicând că o concentrație mare a substanță biologic activăului va avea un impact negativ asupra metabolismului permeației.

$$\left(\frac{du}{dy}\right)^2\Bigg|_{y=0} - \left(\frac{du}{dy}\right)^2\Bigg|_{y=1} = \frac{L^2/D}{C_{S,D}\times P/2V_{max}} \times \left(1 + \frac{K_m}{C_{S,D}\times P} \ln\left(\frac{\frac{K_m}{C_{S,D}\times P}}{\frac{K_m}{C_{S,D}\times P}+1}\right)\right) \quad \textbf{(5.19)}$$

$$2\alpha = \frac{L^2/D}{C_{S,D}\times P/2V_{max}} \quad \textbf{(5.20)}$$

$$\beta = K_m/C_{S,D}\times P \quad \textbf{(5.21)}$$

$$\left(\frac{du}{dy}\right)^2\Bigg|_{y=0} - \left(\frac{du}{dy}\right)^2\Bigg|_{y=1} = 2\alpha\left(1 + \beta \ln\left(\frac{\beta}{\beta+1}\right)\right) \quad \textbf{(5.22)}$$

Termenul L^2/D poate fi interpretat ca fiind *timpul rezident* al substratului în țesut. Cu cât va fi mai lung contactul substratului cu enzimele metaboli-

zante cu atât va fi mai mare rata metabolică. De vreme ce timpul rezident este proporţional cu L^2 impactul grosimii ţesutului este mai mare ca decât cel al coeficientului de difuzie. Cu alte cuvinte, respectând gradienţii de concentraţiilor, o creştere de 10 ori a distanţei L este echivalentă cu o descreştere de 100 ori a coeficientului de difuzie D, sau cu o creştere de 100 ori a ratei metabolice V_{max}.

Pe de altă parte, termenul $C_{S,D}P$ /$2V_{max}$ poate reprezenta timpul metabolic de înjumătăţire al substratului în cazul cineticii de ordinul 0 (de exemplu, la saturaţie) cu V_{max} având valoarea maximă. Totuşi coeficientul 2α este raţia timpului rezident şi termenul timpului de înjumătăţire metabolic, reprezentând o cantitate relativă pentru descrierea metabolis-mului. Dacă timpul de rezidenţă este legat de timpul de înjumătăţire vor rezulta valori mici pentru 2α, iar şansa ca moleculele substratului intact să pătrundă în ţesut este mare. Dimpotrivă, când timpul de rezidenţă are valori mai mari decât timpul de înjumătăţire, 2α este mare şi permeaţi substratului intact este blocată de un metabloism eficient.

L este un parametru cheie în metabolism şi transport de masă, influenţndu-l pe 2α prin valoarea pătratului său. În timp ce difuzia prin ţesuturi subţiri poate fi suficient de mare caă să contrabalanseze substratul metabolizat, permeaţia prin ţesuturile groase poate fi limitată de difuzie şi duce practic la metabolizarea completă a substanţă biologic activăului.

În concluzie, se poate spune că transportul de masă şi cinetica metabolismului sunt strâns legate şi determină impactul timpului de rezidenţă.

Fiecare parametru de bază (grosimea ţesutului, coeficientul de difuzie etc.) vor afecta profilul concentraţiei substratului în ţesut şi fluxul său.

Coeficientul 2α este determinant pentru descrierea metabolis-mului în timpul absorbţiei. Se pot calcula posibilităţile de penetrare ale diverselor substanţe, chiar şi a celor cu potenţial toxic.

Scanned with OKEN Scanner

Fig.5.2. Dependența fluxului de concentrație și de distanță

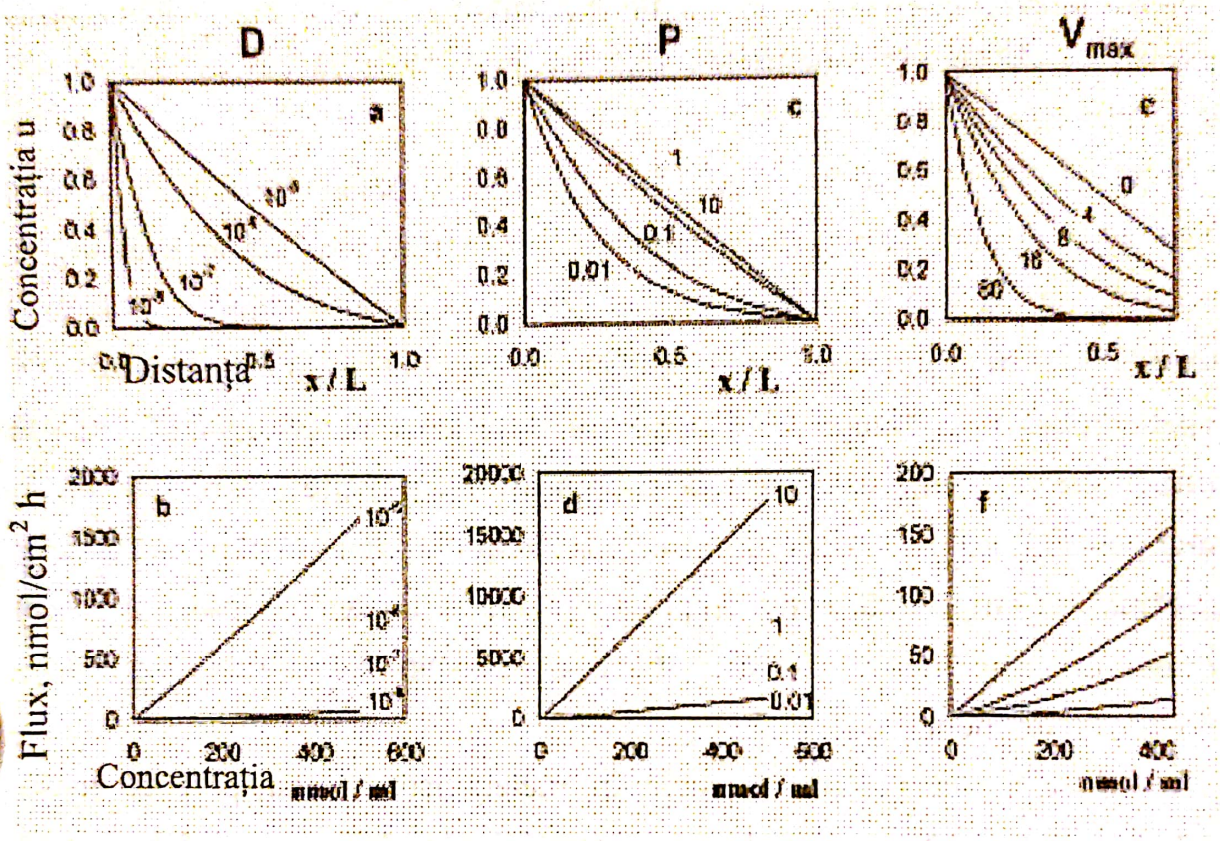
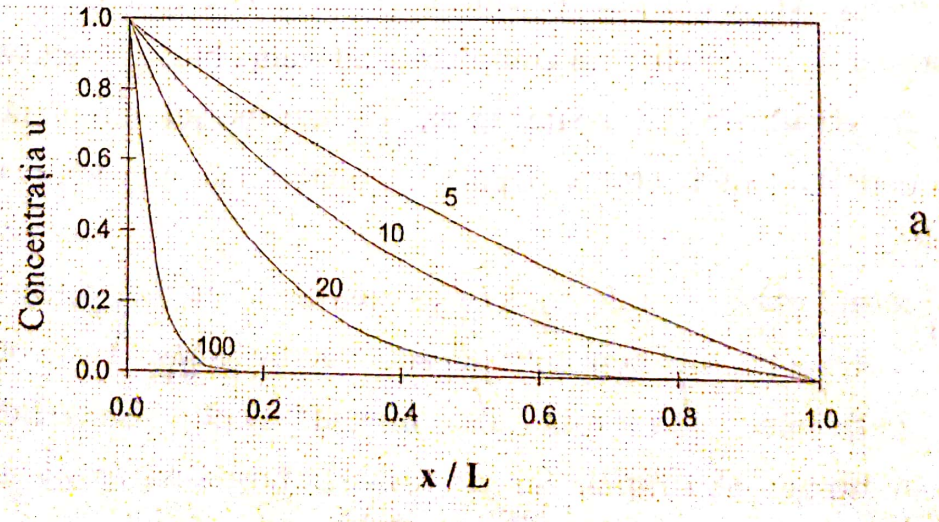
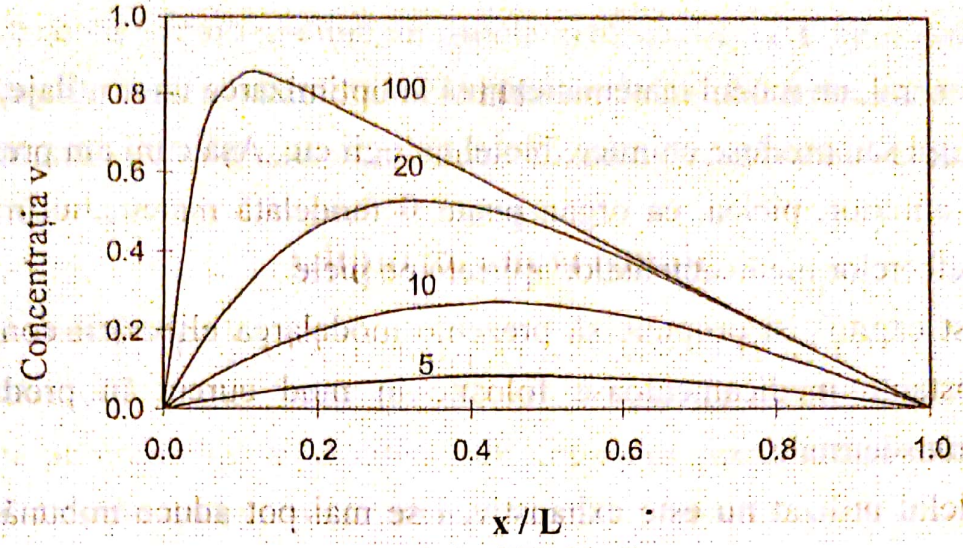
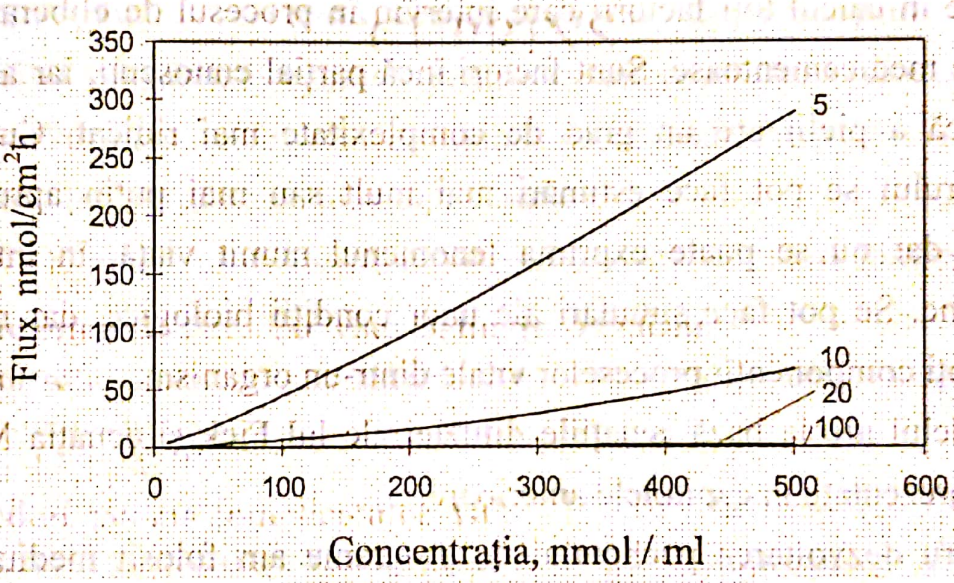


Fig.5.3. Grafice ce redau dependența concentrației de distanță (a, b, c)



a





6. Modelarea matematică asistată de calculator a sistemelor cu eliberare transdermală a principiilor active

Modelarea matematică ajută la exprimarea formală a realității, modelul reprezentând o descriere matematică a unui proces concret asupra căruia se fac observații empirice sau dirijate.

Nu se poate afirma că un model matematic este o imagine fidelă a procesului fizic sau chimic sau biologic în sine, natura fiind mult mai complexă decât un computer și programe specifice de calcul o pot reprezenta

Scanned with OKEN Scanner

vreodată.

În general, un model matematic ajută la optimizarea unor utilaje, procese şi tehnologii sau produse chimice, biotehnologii etc. Aşa cum am prezentat în capitolul anterior, pielea, ca organ poate fi modelată matematic în vederea studierii efectelor medicamentelor aplicate pe piele.

Acest capitol îşi propune să prezente modelarea eliberării controlate a unor substanţe medicamentoase folosite în mod curent în producţia de sisteme transdermale.

Modelul utilizat nu este exhaustiv, i se mai pot aduce îmbunătăţiri, ne luându-se în calcul toţi factorii care intervin în procesul de eliberare a unei substanţe medicamentoase. Sunt factori încă parţial cunoscuţi, iar activitatea enzimatică a pielii are un grad de complexitate mai ridicat. Cu ajutorul calculatorului se pot face estimări mai mult sau mai puţin apropiate de realitate, dar nu se poate exprima fenomenul numit viaţă, în întreaga sa plenitudine. Se pot face simulări ale unor condiţii biologice, dar nu se pot calcula toţi componenţii proceselor vitale dintr-un organism.

Modelul are la bază ecuaţiile difuziei ale lul Fick şi ecuaţia Michaelis Menten prezentate în capitolele anterioare.

Pentru dezvoltarea pachetului de programe am folosit mediul Matlab 5.0, ce permite atât simularea în sine cât şi rezolvarea ecuaţiilor diferenţiale care apar ca urmare a dezvoltării legilor difuziei în cazul pielii.

S-a preferat acest mediu de programare Matlab 5.0 deoarece el permite dezvoltarea de aplicaţii într-un timp scurt şi cu eforturi minime, fiind un soft care este la îndemâna oricărei persoane interesate.

Matlab 5.0 conţine o multitudine de proceduri şi funcţii orientate în special spre domeniul matematic şi spre afişarea în 2D şi în 3D a soluţiilor.

În pachetul de programe dezvoltat am folosit o funcţie de rezolvare a sistemelor de ecuaţii diferenţiale, Dae 4 scrisă de Tony Roberts, 18 Aug 1998, de la Universitatea din Oxford.

Scanned with OKEN Scanner

Spre deosebire de mediile de programare uzuale C, C++, Pascal, Basic, Matlab 5.0 cere mai puține cunoștințe de programare, timp mai scurt pentru dezvoltarea aplicațiilor și este preferat în mediile universitare din lume în special pentru prezentarea grafică ireproșabilă.

Se consideră pielea ca fiind un sistem alcătuit din două straturi cu rol important asupra penetrării prin piele a substanțelor biologic active: stratul cornos și epiderma viabilă. Acestea sunt urmate de derm în care se află vasele de sânge unde va ajunge medicamentul.

În stratul cornos există o activitate enzimatică redusă și prin urmare, în ecuația Michaelis Menten, vom avea o viteză de metabolizare redusă. În epiderma viabilă se întâlnește o activitate enzimatică puternică, o parte din medicament pierzându-se prin metabolizarea lui.

Pachetul de programe este format din șase programe distincte care dau posibilitatea studiului influenței următorilor parametri asupra eliberării medicamentelor: *concentrația inițială din patch, concentrația finală în sânge, coeficientul de difuzie.*

A1, primul program simulează în 2D variația concentrației substratului pornind de la o concentrație inițială dată. **A2** simulează în 3D variația concentrației substratului pornind de la un interval de concentrații inițiale. **A3** simulează în 3D variația concentrației substratului pornind de la o concentrație inițială dată și variind coefientul de difuzie al substratului în epiderma viabilă.

B1, primul program din seria a doua simulează în 2D variația concentrației substratului pornind de la o concentrație finală dată. **B2** simulează în 3D variația concentrației substratului pornind de la un interval de concentrații finale. **B3** simulează în 3D variația concentrației substratului pornind de la o concentrație finală dată și variind coefientul de difuzie al substratului în epiderma viabilă.

În continuare vor fi ilustrate câteva aplicații ale acestor programe.

Scanned with OKEN Scanner

6.1. Simularea plană a variației concentrației substanței active dintr-un patch cu nitroglicerină pornind de la concentrația inițială **(Exemplul 1)**

Se consideră un sistem transdermal ce conține nitroglicerină. Știind că se aplică pe pielea unui adult pentru care se cunosc grosimea stratului cornos (10μ) și a epidermului viabil (50μ), iar **concentrația inițială** în patch este de 350 nmoli/ml să se afle:

a. care este concentrația finală din sistem și dacă se încadrează în domeniul concentrațiilor eficace terapeutice (0,000528-0,0484 nmoli/ml);

b. care este coeficientul de difuzie pentru a obține o concentrație terapeutică maximă de 0,0484 nmoli/ml, prin folosirea unor modificatori de permeabilitate.

Acest exemplu se poate rezolva rulând secvențele de program A1, A2, A3.

Iată în continuare soluțiile grafice pentru punctul a:

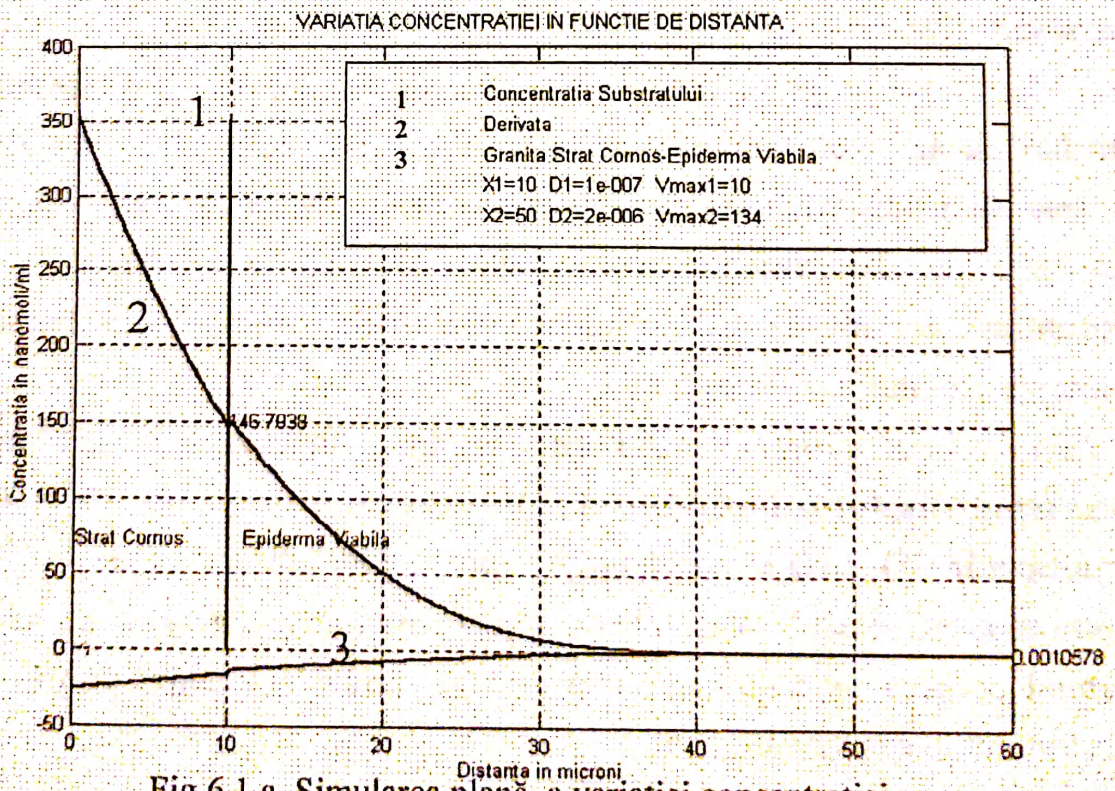


Fig.6.1.a. Simularea plană a variației concentrației

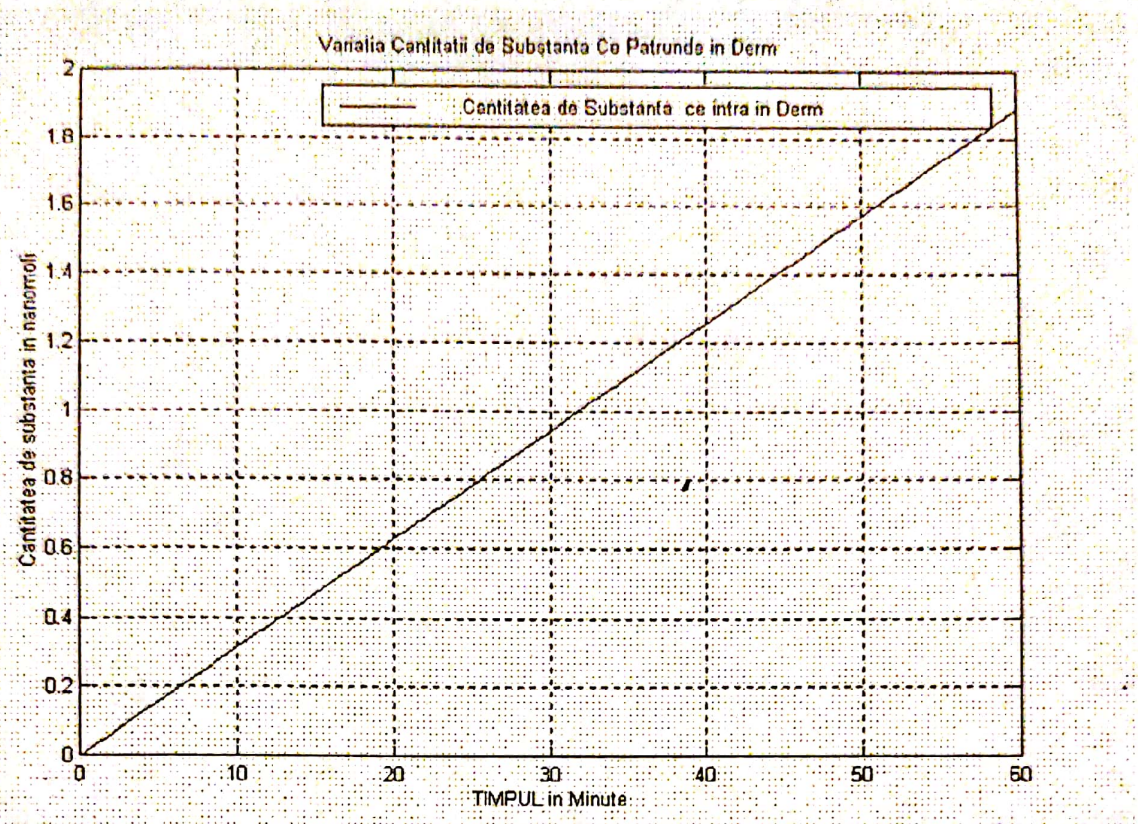


Fig.6.1.b. Variația fluxului de substanță în dermă

Observații:

După cum se observă din figura 6.1.a concentrația finală la care se ajunge este de 0,00105 nmoli/ml, o valoare ce se află în domeniul concentrațiilor necesare domeniului terapeutic, eficace.

În figura 6.1.b se observă modul de variație al fluxului substanței prin derm. Într-un timp de 60 minute în derm pătrunde o cantitate de substanță egală cu 1,85 nmoli. În acest fel se poate calcula oricând câtă substanță a pătruns în derm estimându-se dacă este eficientă, ineficientă sau toxică.

În figura 6.2 sunt prezentate curbele de nivel pentru aceeaşi concentrație observându-se că pentru curba de nivel având valoarea de 0,05 nmoli există o valoare a coeficientului de difuzie de aproximativ 2,5 $*e^{-6}$ cm^2/ s. Dacă vom lua în considerație alte curbe de nivel şi implicit alte valori ale concentrației vor rezulta alte valori ale coeficientului de difuzie, ceea ce înseamnă folosirea unor modificatori de permeabilitate adecvați.

Scanned with OKEN Scanner

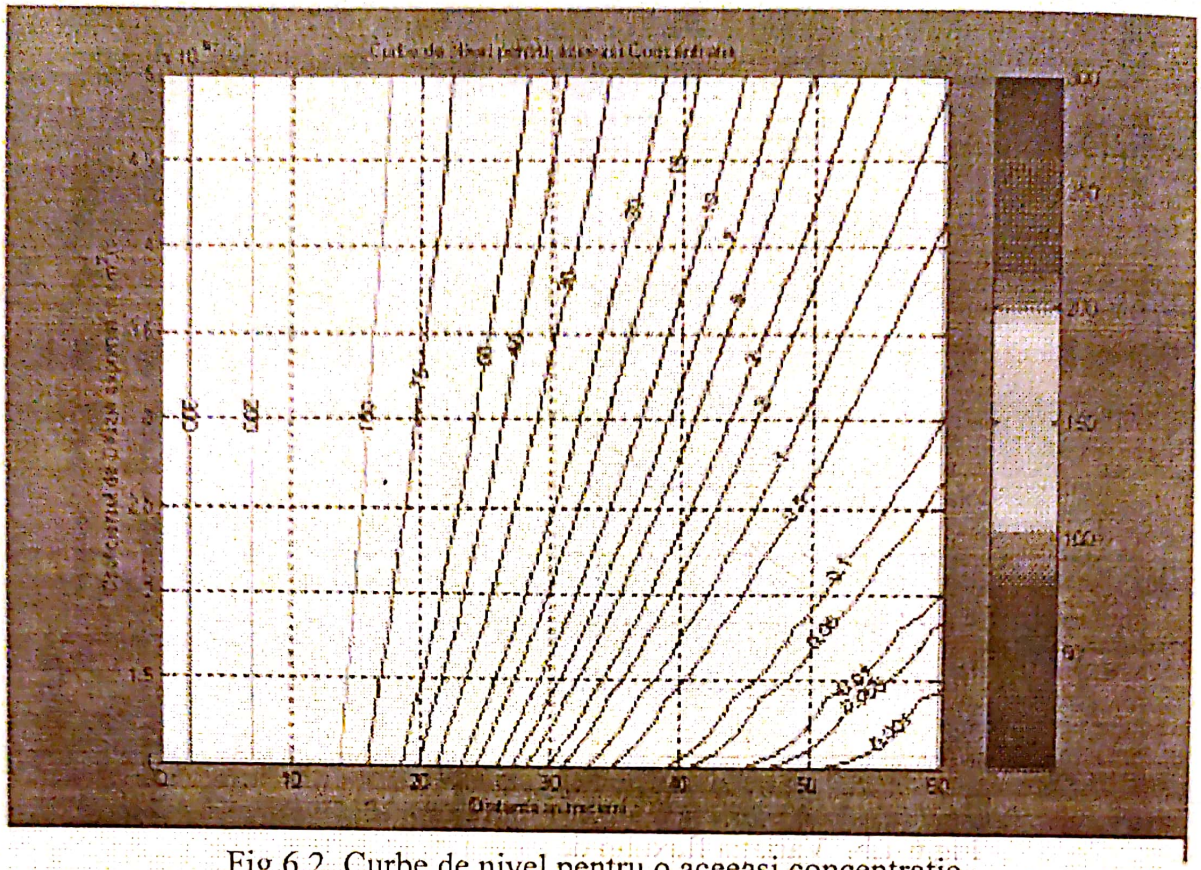


Fig.6.2. Curbe de nivel pentru o aceeaşi concentraţie

6.2. Simularea variaţiei concentraţiei substanţei active într-un patch cu nitroglicerină pornind de la concentraţia finală **(Exemplul 2)**

Se consideră un sistem transdermal ce conţine nitroglicerină. Ştiind că se aplică pe pielea unui adult, pentru care se cunosc grosimea stratului cornos (10μ) şi a epidermului viabil (50μ), iar **concentraţia finală** eficace trebue să fie de 0,03 nmoli/ml să se afle:

a. care este concentraţia iniţială in sistem dacă nu se utilizează un modificator de permeabilitate;
b. care sunt perechile de valori ale concentraţiei iniţiale şi ale coeficientului de difuzie dacă se foloseşte un modificator de permeabilitate.

Scanned with OKEN Scanner

Soluția la punctul a este:

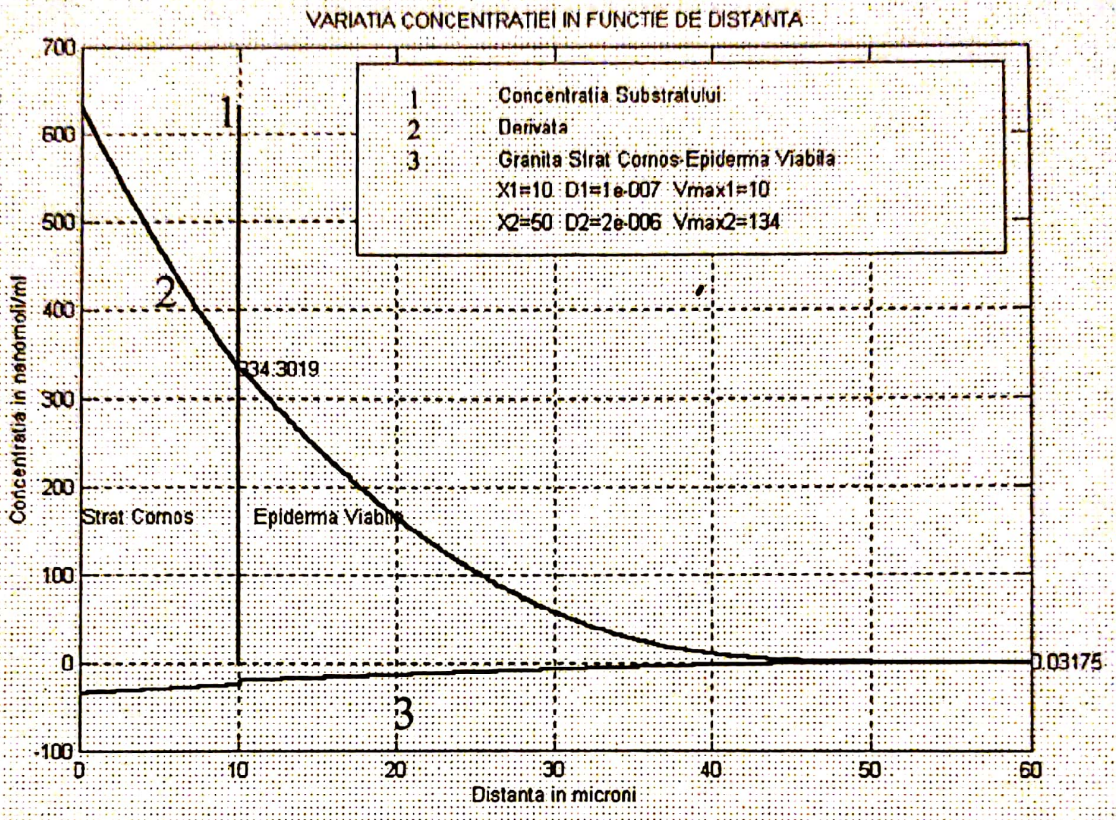


Fig.6.3. Variația concentrației în funcție de distanță

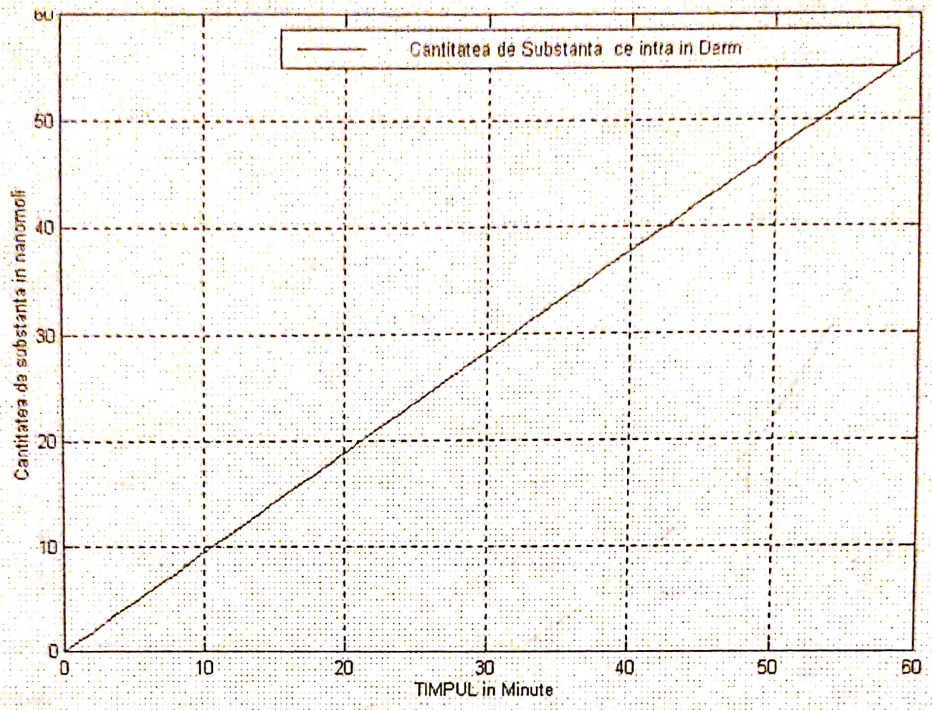
Observații:

După cum se observă în figura 6.3., în patch este necesară o concentrație inițială de 630 nmoli/ml pentru un coeficient de difuzie normal de $2*e^{-6}$ cm^2 /s.

În figura 6.4 este reprezentat grafic fluxul de substanță ce pătrunde în derm în interval de o oră. Astfel, în derm vor intra aproximativ 60 nmoli de substanță.

Soluția de la punctul b este oglindită de graficele figurilor 6.4 și 6.5.

Fig.6.4. Variația cantității de substanță pătrunsă în dermă



Analizând figura 6.5 observăm că:

1. la un coeficient de difuzie de $2*e^{-6}$ cm^2 /s corespunde o valoare a concentrației inițiale de aproximativ 600 nmoli/ml; situație ce corespunde punctului a.
2. folosind un modificator de permeabilitate mediu cuprins între valorile $2.5*e^{-6}$ cm^2 /s și $3.5*e^{-6}$ cm^2 /s avem un interval de concentrații inițiale de 500-350 nmoli /ml.

Folosind un modificator de permeabilitate foarte bun avem un coeficient de difuzie de $4.5*e^{-6}$ cm^2 /s căreia îi corespunde o valoare a concentrației inițiale de 250 nmoli /ml.

În figura 6.6 prezentăm în 3D modul în care variază concentrația atunci cînd modificăm coeficientul de difuzie în intervalul: e^{-6} și $5*e^{-6}$.

Fig.6.5. Curbe de nivel pentru o aceeaşi concentraţie

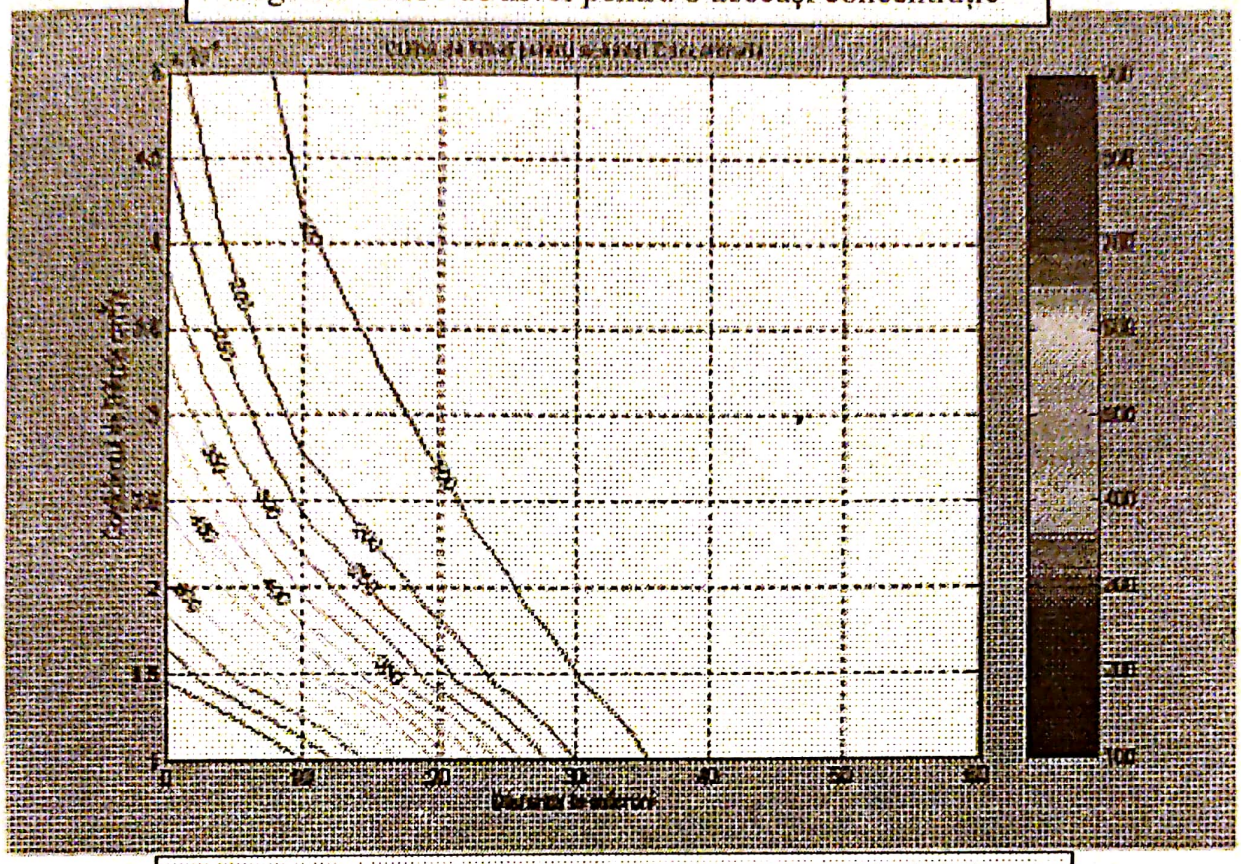
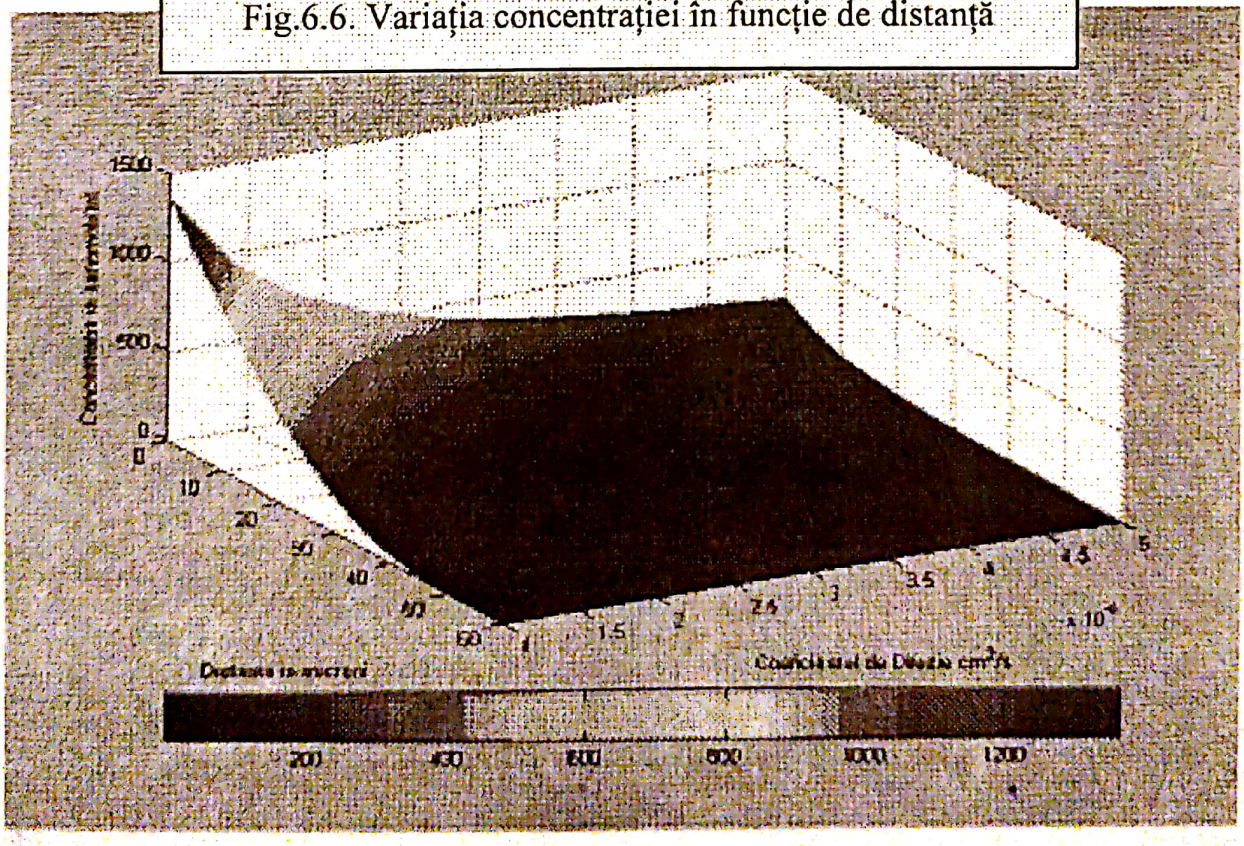


Fig.6.6. Variaţia concentraţiei în funcţie de distanţă



Scanned with OKEN Scanner

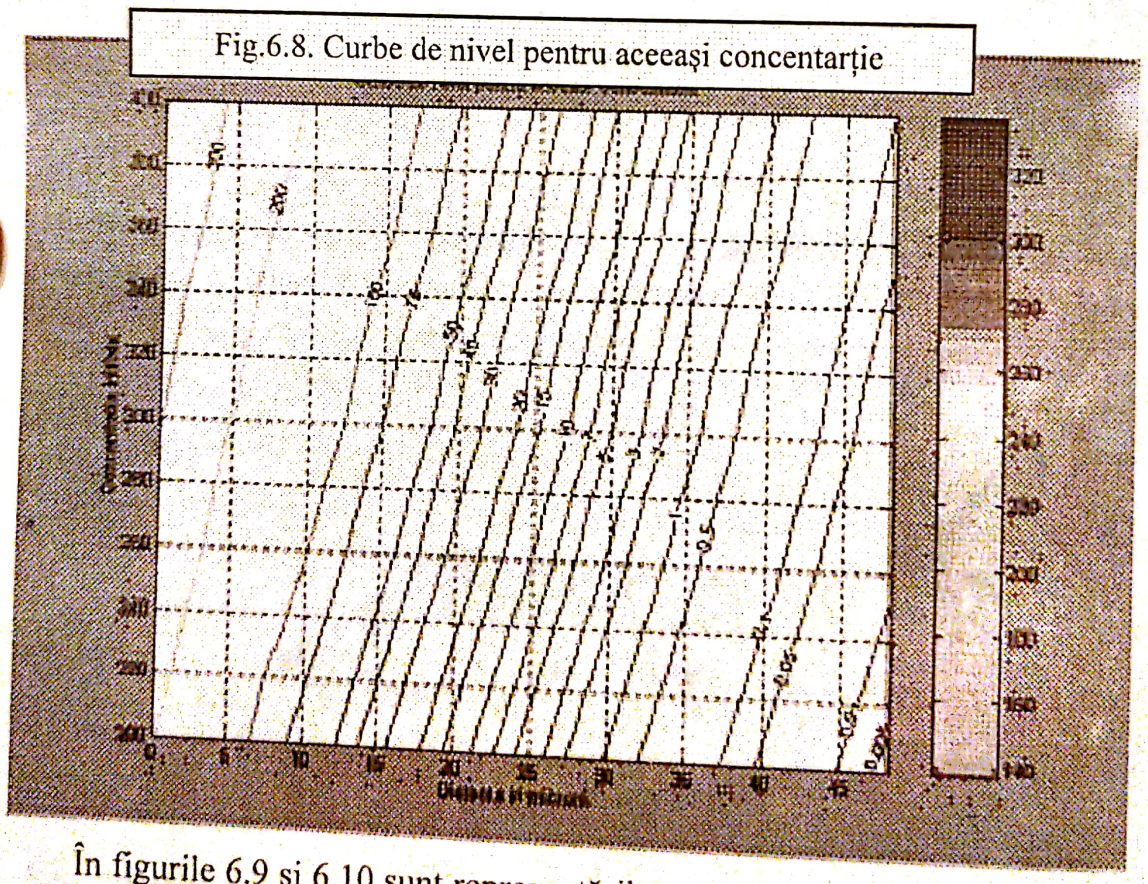
6.3. Simularea variației concentrației substanței active într-un patch cu nitroglicerină pornind de la concentrația inițială pentru o piele subțire **(Exemplul 3)**

Se consideră un patch cu nitroglicerină a cărui concentrație variază între 200 și 400 nmoli, care se aplică pe o piele subțire (8μ grosimea stratului cornos, iar grosimea epidermului viabil este de 40 μ, cu un coeficient de difuzie normal $2*e^{-6}$). Se cere plaja de concentrații finale în acest caz.

Soluția de obține utilizând modulul A2 a pachetului de programe.

După cum se observă în figura 6.8 plaja de concentrații din derm este 0,005-0.1 nmoli.

Fig.6.8. Curbe de nivel pentru aceeași concentarție



În figurile 6.9 și 6.10 sunt reprezentările spațiale ale curbelor de nivel de mai sus.

Fig.6.9. Variaţia concentraţiei în funcţie de distanţă

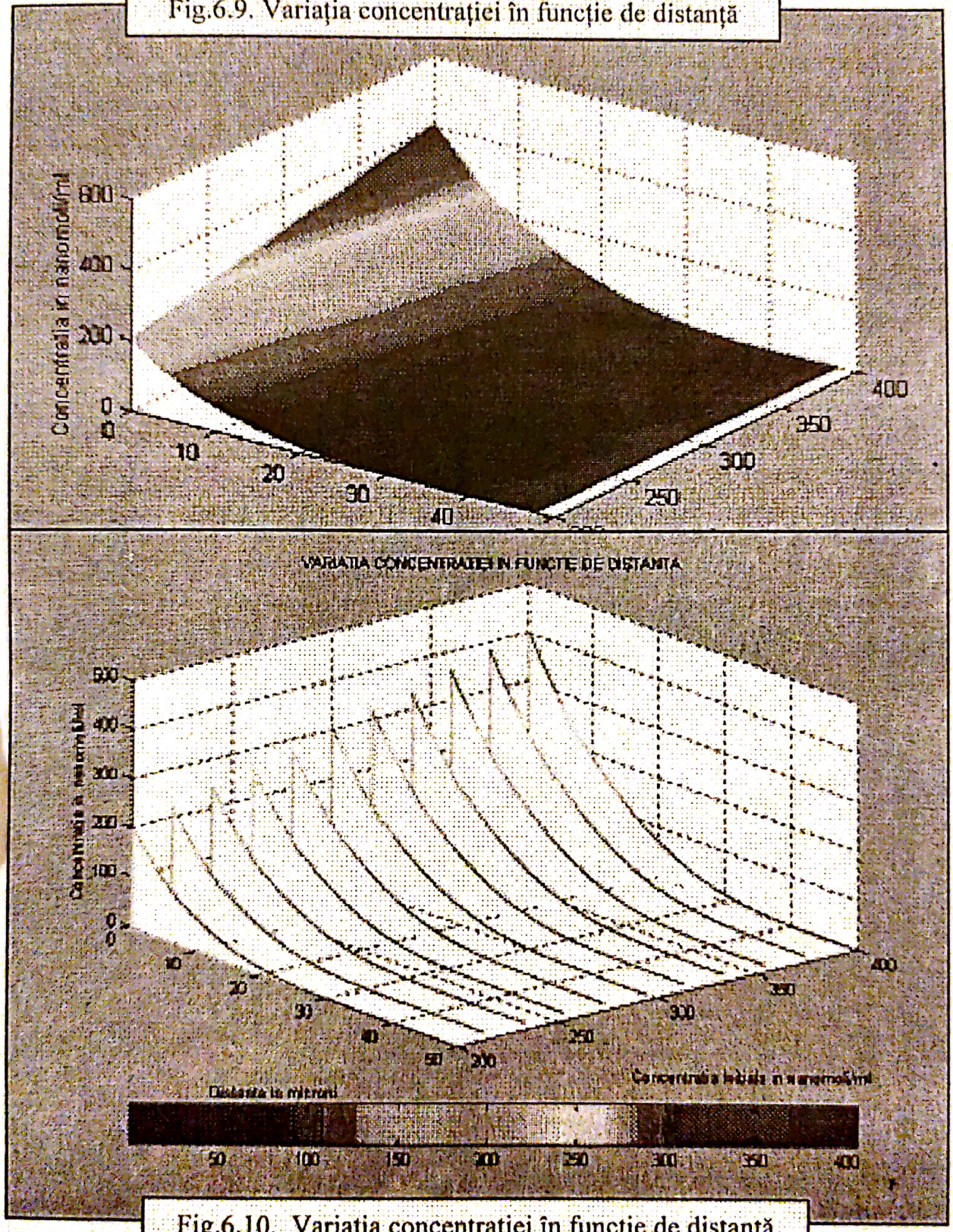


Fig.6.10. Variaţia concentraţiei în funcţie de distanţă

6.4. Simularea variației concentrației substanței active într-un patch cu scopolamină pornind de la concentrația inițială **(Exemplul 4)**

Se consideră un patch cu scopolamină care se aplică pe pielea unui adult pentru (grosimea stratului cornos este de 10μ, iar gosimea epidermei viabile de 50μ).

Se cere:

a. care este concentrația finală în derm știind că se pornește de la o concentrație de 225nmoli;

b. care este coeficientul de difuzie necesar pentru a obține o concentrație terapeutică eficace de 0,000132nmoli/ml pentru o con-centrație inițială de 150nmoli/ml.

Se vor folosi secvențele de program A1, A2, A3. Soluția la punctul a este:

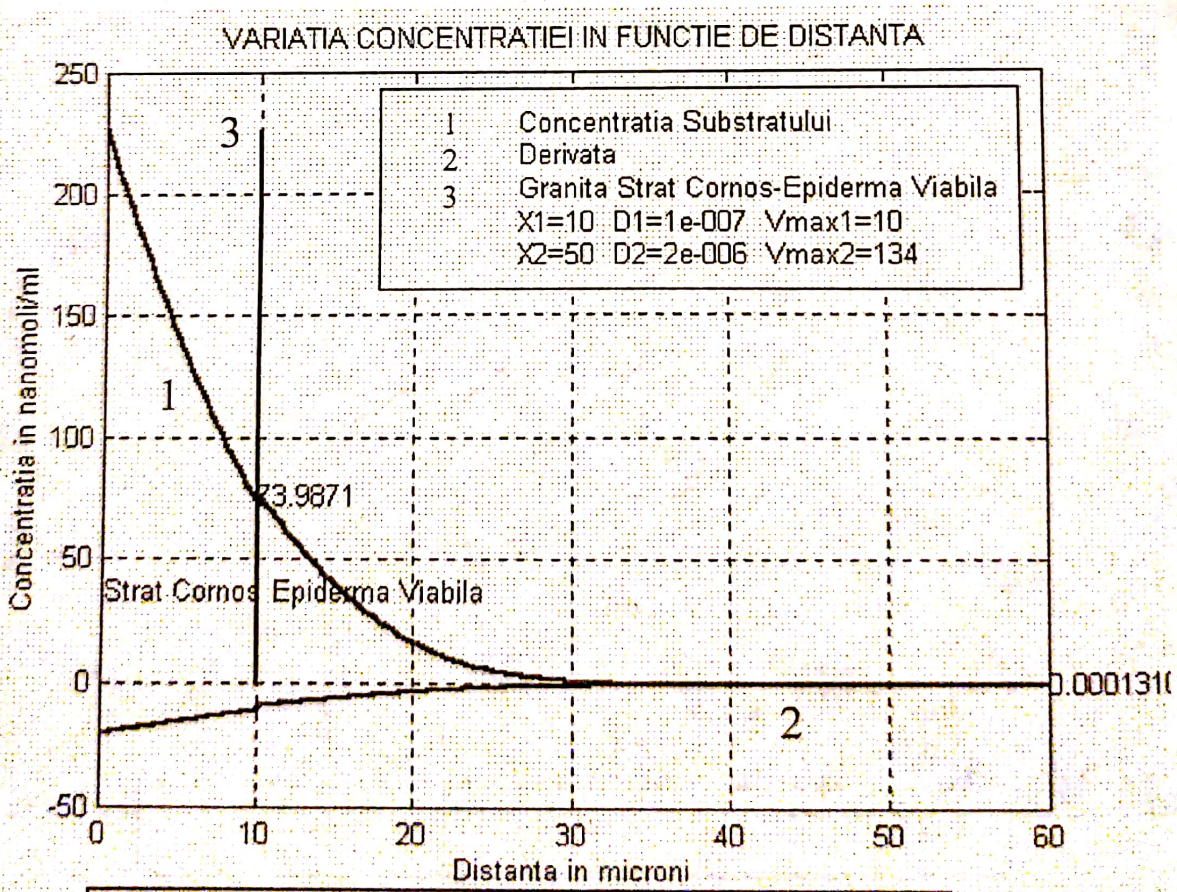
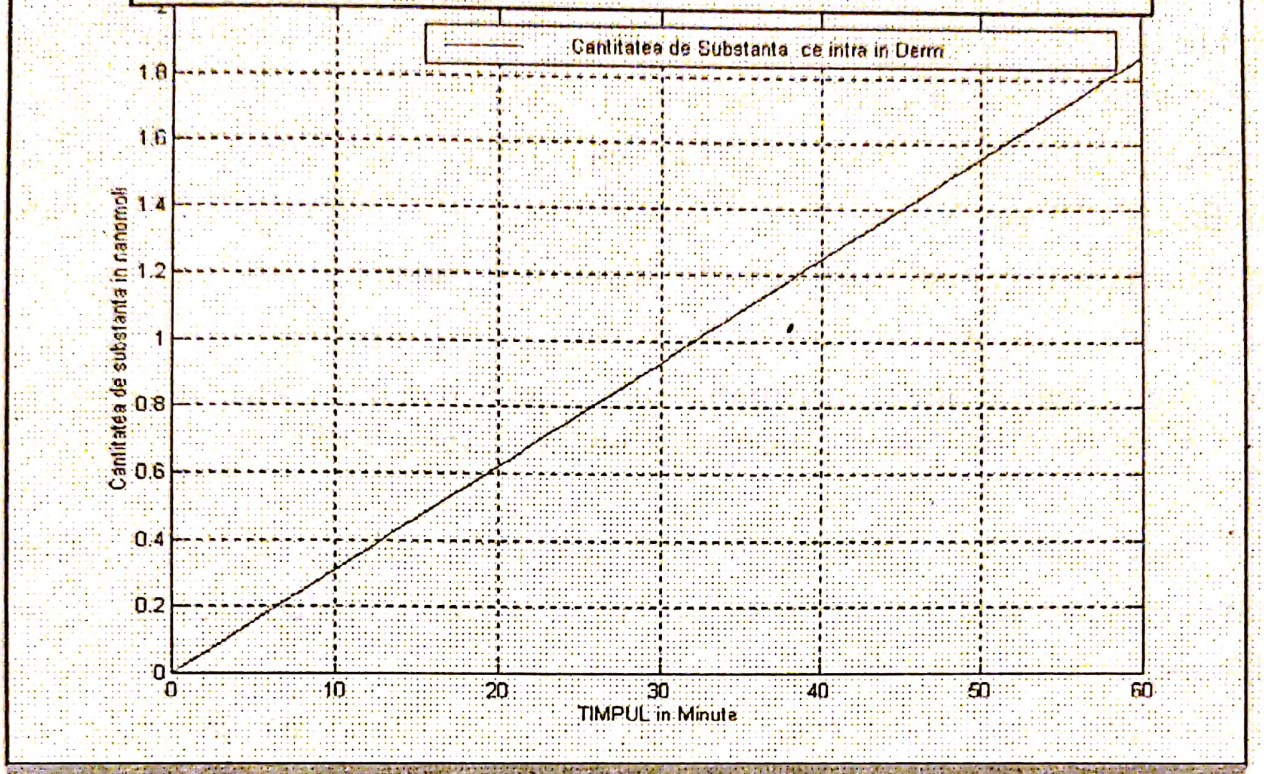


Fig. 6.11. Variația concentrației funcție de distanță

Fig. 6.12. Variația cantității de substanță ce pătrunde în dermă



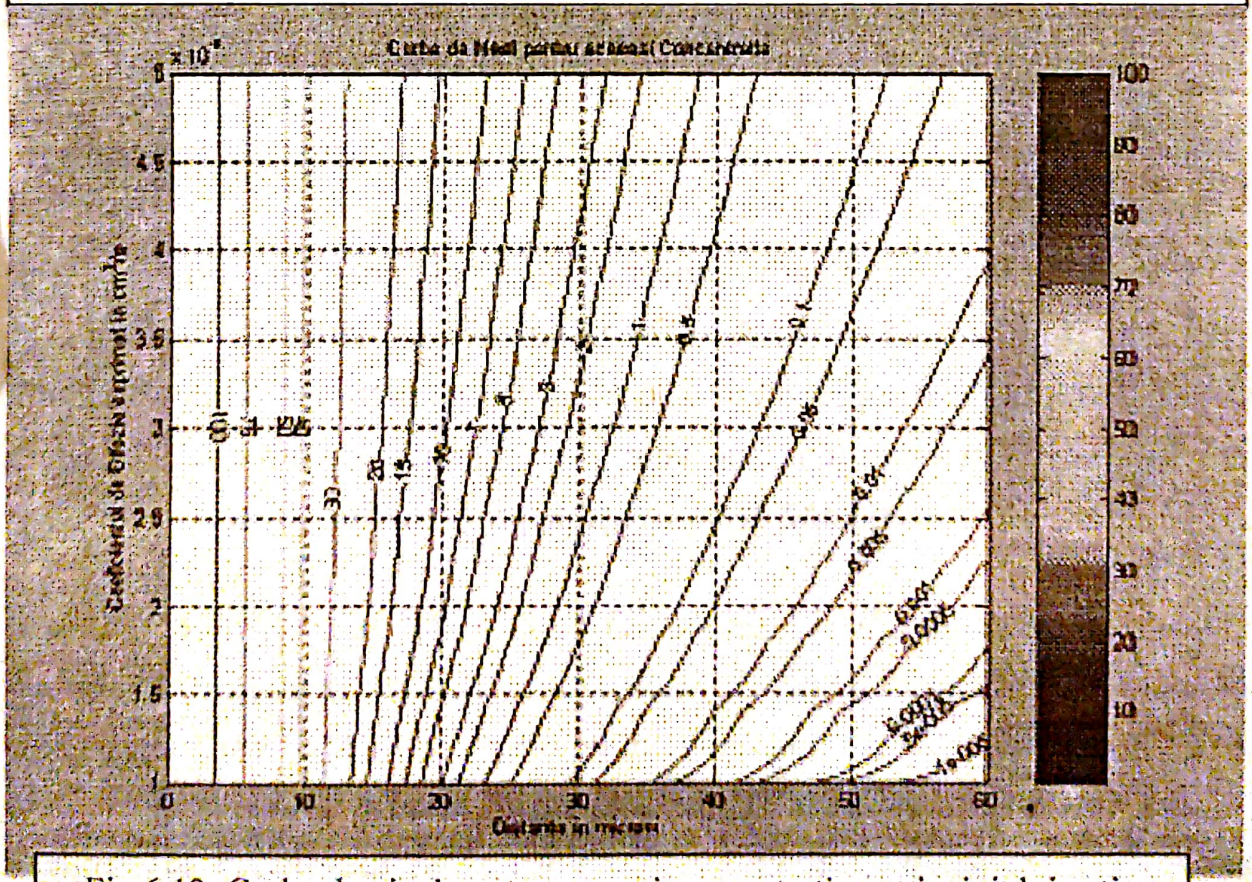


Fig.6.13. Curbe de nivel pentru aceeași concentrație a principiului activ

Scanned with OKEN Scanner

După cum se vede în figura 6.11. concentrația finală care ajunge în dermă este de 0,00131 nmoli/ml, valoare care este foarte apropiată de valoarea concentrației terapeutice pentru scopolamină. În figura 6.12 este prezentată variația fluxului substanței în dermă, în timp de o oră, pe o suprafață de 8cm^2. Se observă că în dermă pătrunde o cantitate de 1,89 nmoli. În figura 6.13. se observă că pentru valorile date este necesar un coeficient de difuzie normal în jurul valorii de 2*e^{-6} (soluția la punctul b).

6.5. Simularea variației concentrației substanței active într-un patch cu nicotină pornind de la concentrația finală **(Exemplul 5)**

Se consideră un patch cu nicotină. Se aplică pe pielea unui adult pentru care grosimea stratului cornos este de 10 μ, iar cea a epidermului viabil, de 50μ. Se urmăreşte a se determina:

a. care este concentrația inițială în patch ştiind că se doreşte o concentrație finală de 0,1 nmoli;
b. care este coeficientul de difuzie necesar pentru a obține o concentrație terapeutică eficace de 0,185 nmoli/ml, pentru o concentrație inițială de 450 nmoli /ml.

Din figura 6.14. se remarcă concentrația inițială de 750 nmoli (soluția la punctul a). Figura 6.15 prezintă variația fluxului de substanță în dermă, în interval de o oră, pe o suprafață de 10cm^2. În dermă pătrund 180 nmoli. După cum se observă şi din exemplele anterioare, variația fluxului substanței în derma umană este dependentă de natura şi de proprietățile acesteia.

Soluția punctului b: în figura 6.16 observăm că pentru a obține o concentrație terapeutică de 0.185 nmoli, pornind de la o concentrație inițială de 450 nmoli, este necesar un coeficient de difuzie de 3.5*e^{-6} cm^2/s.

Dacă se intenționează utilizarea unei concentrații inițiale mai mici, în patch, de 350nmoli/ml trebuie să fie folosit şi un modificator de permea-

Scanned with OKEN Scanner

bilitate mai eficient, pentru a obține un coeficient de difuzie de $4.5*e^{-6}cm^2/s$.

Fig.6.14. Variația concentrației în funcție de distanță

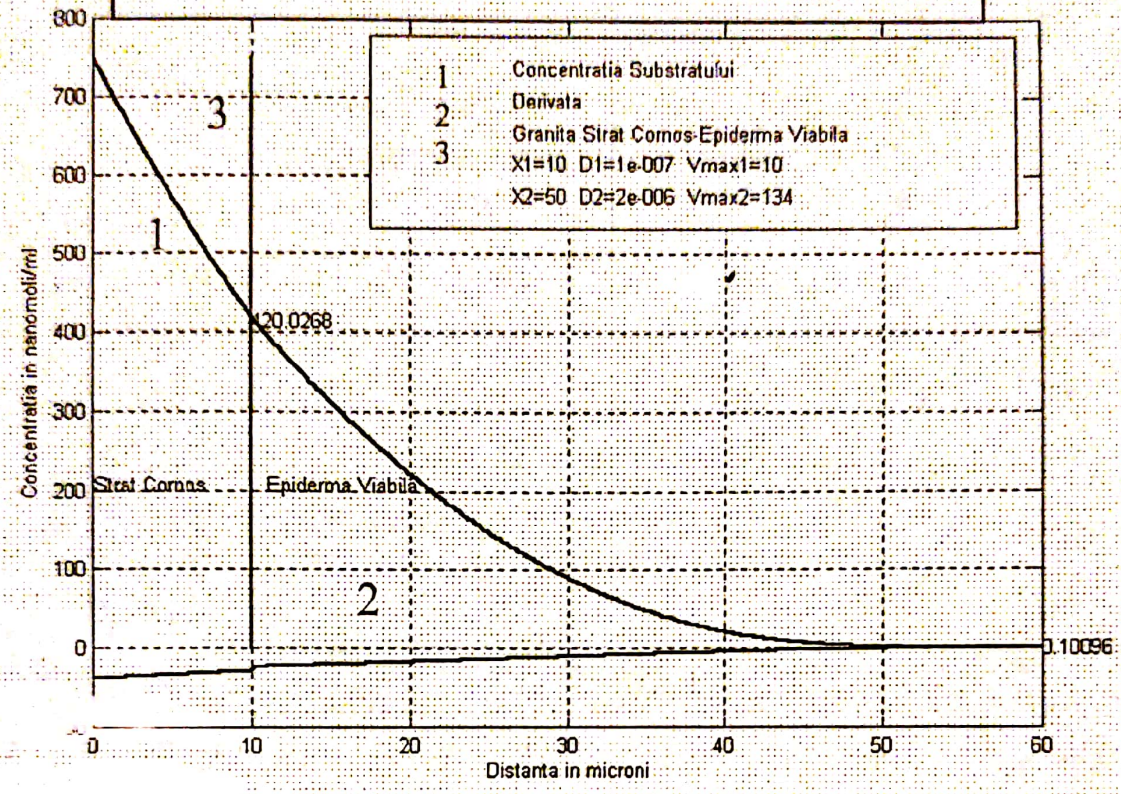
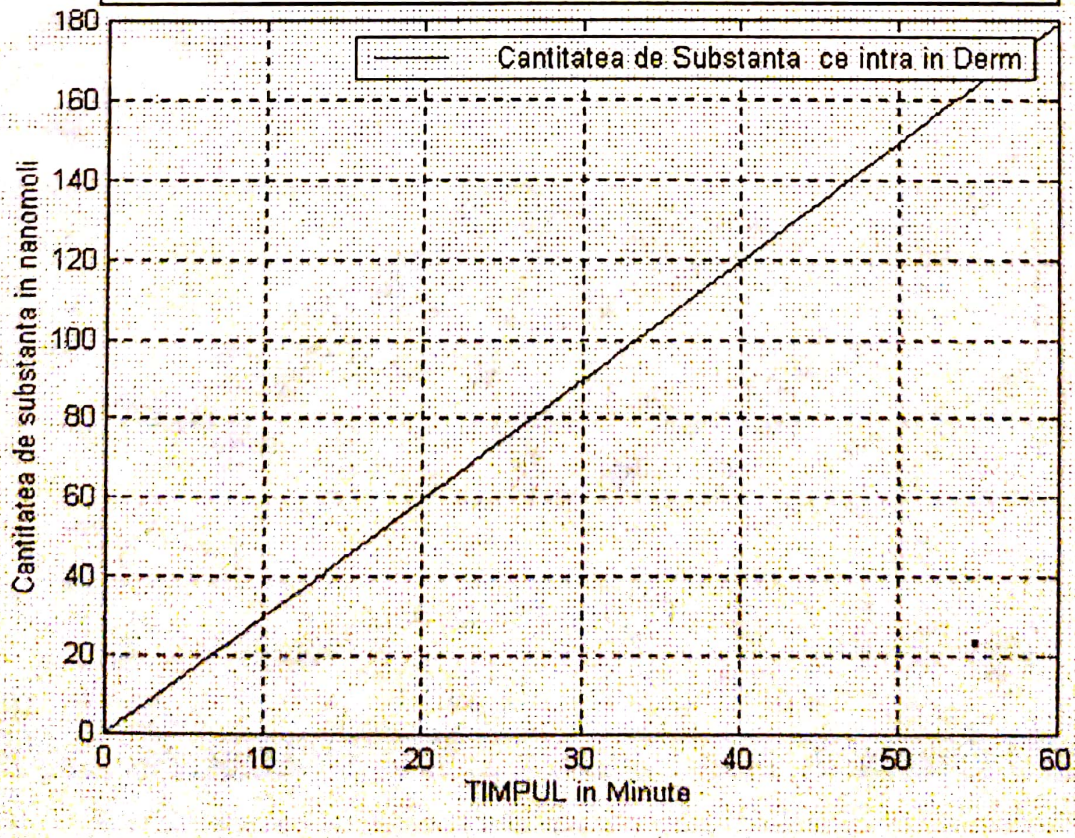


Fig.6.15. Variația cantității de p.a. ce pătrunde în dermă



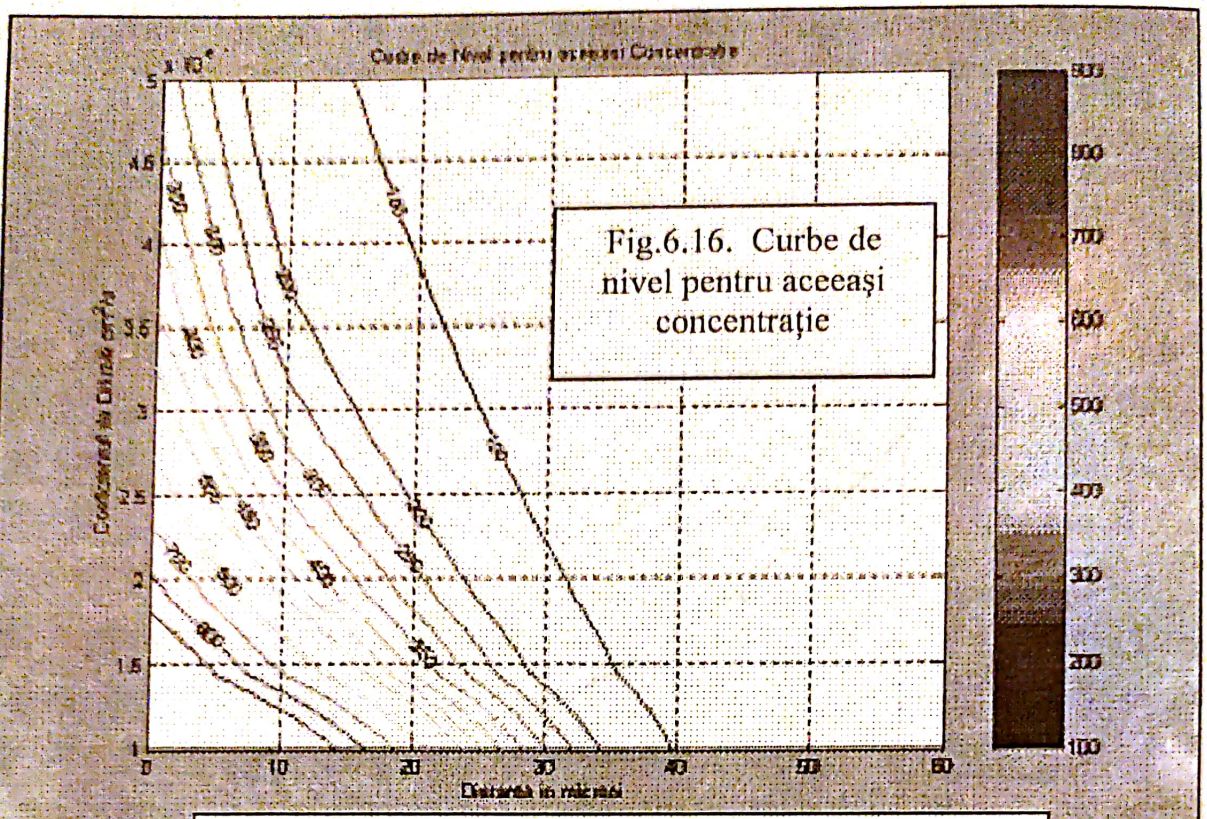
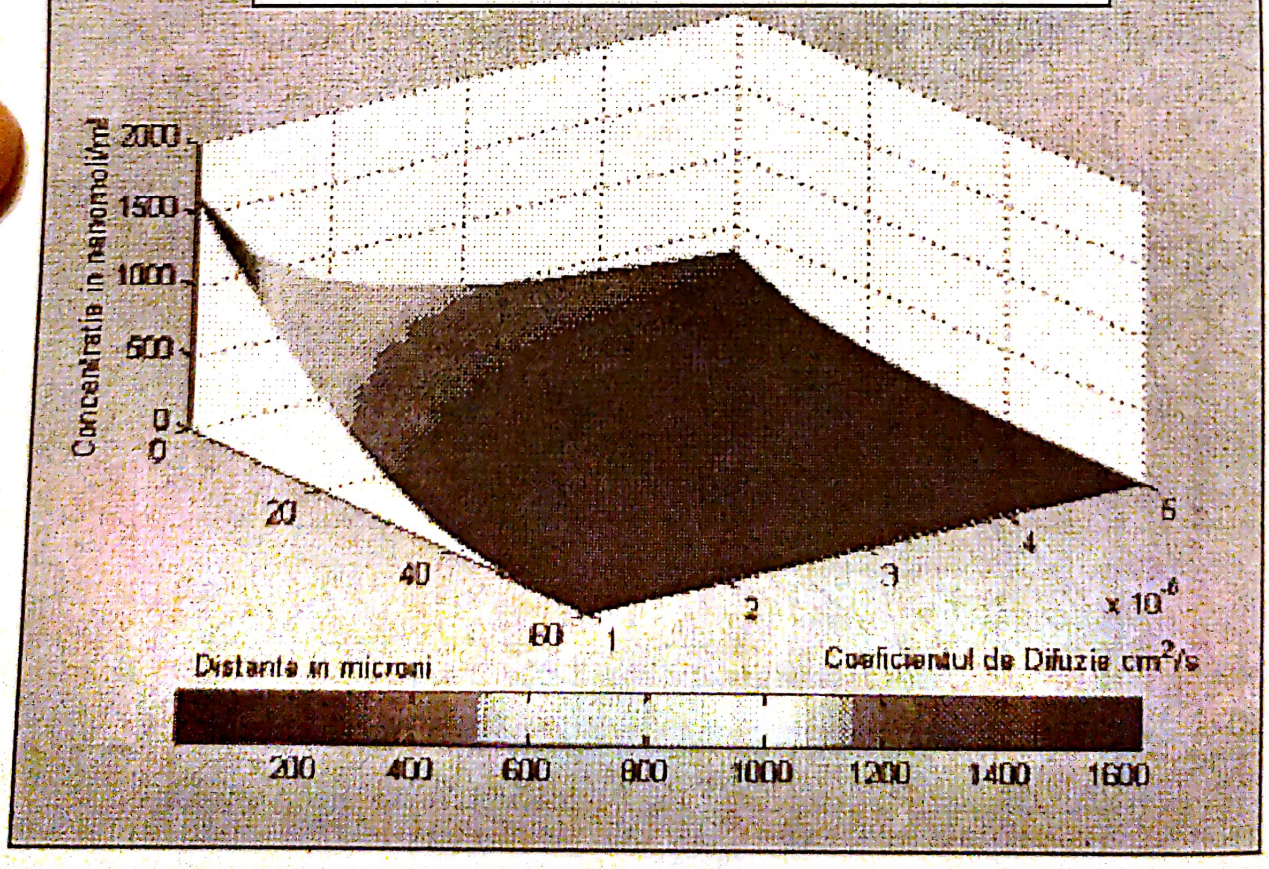


Fig.6.16. Curbe de nivel pentru aceeași concentrație

Fig.6.17. Variația concentarției în funcție de distanță



Scanned with OKEN Scanner

7. Proiectarea asistată de calculator a sistemelor transdermale

În această secțiune vom urmări să prezentăm o modalitate de a aplica matematica și informatica în cadrul studiului sistemelor transdermale, ca punct de vedere al bioinginerului medical în această direcție.

S-a luat în studiu obținerea unui sistem cu nitroglicerină pentru diverse categorii de pacienți, din punct de vedere al vârstei, sau a eventualelor afecțiuni ale pielii prezente.

Ca și în secțiunea precedentă a acestui capitol, vom folosi aceeași secvență de programe din limbajul de programare Matlab 5.0.

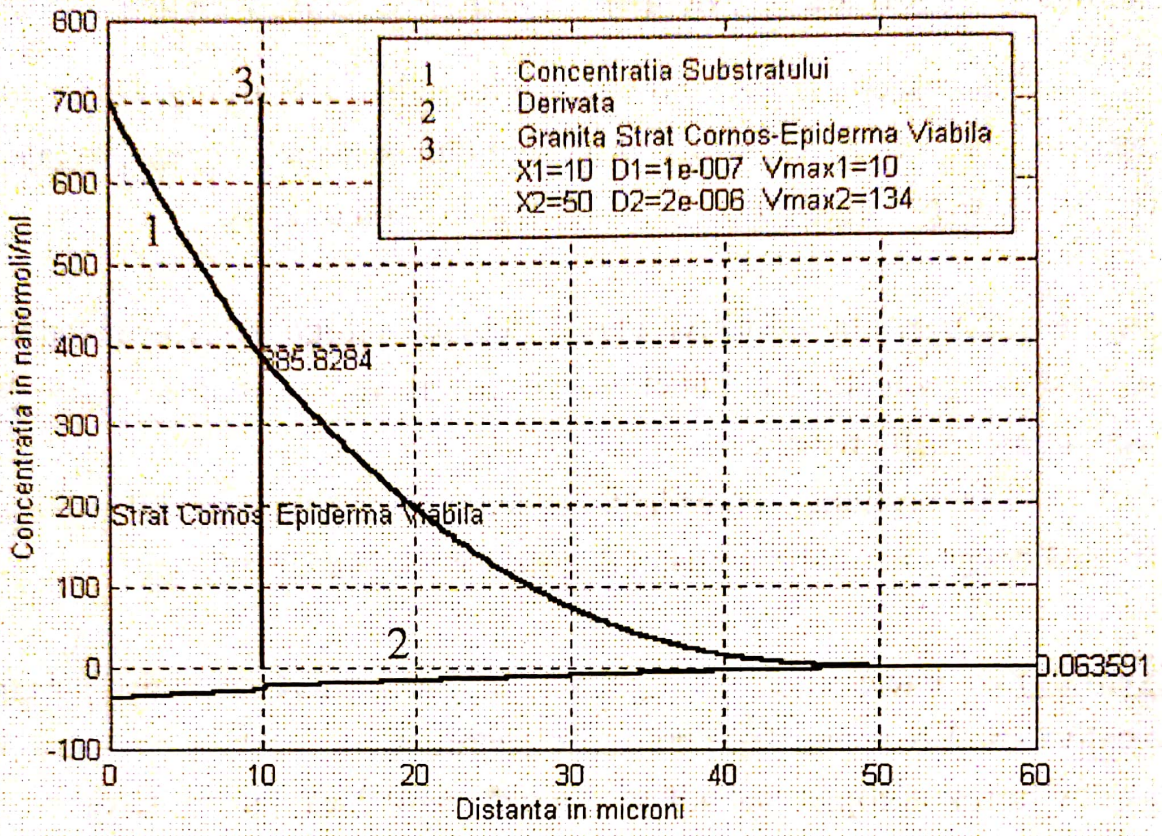
Exemplul 1 - Pacientul P. A., în vârstă de 35 ani suferă de angină pectorală de câțiva ani. Efectuându-i-se un control de rutină s-a constatat conform EKG că în viitorul apropiat va suferi o criză care dacă nu va fi oprită sau preîntâmpinată poate duce la infarct miocardic. Se propune utilizarea unui patch cu nitroglicerină.

Ținând seama de iminența evenimentului ca și de gravitatea lui este necesară obținerea în plasmă a unei concentrații eficace terapeutice maxime, chiar putând să depășească această valoare. Cunoscând că valoarea maximă a concentrației este în acest caz de 0,0484 nmoli, chiar ajungându-se la 0,06 nmoli, iar grosimea stratului cornos este de 10μ, iar a epidermei viabile de 50μ, este necesară proiectarea unui sistem transdermal care să poată îndeplini aceste condiții. De aceea trebuie determinată concen-tra ția inițială în patch, în vederea proiectării și realizării sistemului.

Se aplică secvența de programe B1. Iată care sunt rezultatele date de calculator, rezultate care pot constitui baza de plecare în proiectarea și apoi fabricarea pe scară largă a acestui sistem.

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 7.1 Variația concentrației cu distanța



Observații:

Conform figurii de mai sus concentrația inițială în patch trebuie să fie în valoare de 702,54nmoli, valoare care este posibil de atins cu tehnologiile actuale. O altă soluție ar fi utilizarea unor modificatori de permeabilitate care să permită folosirea unei concentrații inițiale mai mici, deci economisirea substanței active. În acest caz se nencesită folosirea secvenței B3. Se cunosc coeficientul de difuzie normal ($1e^{-6}$) precum și valoarea sa maximă ($5*1e^{-6}$).

Iată și soluțiile grafice (figurile 7.2. și 7.3.): După cum se observă, la un coeficient de difuzie relativ mic, de $1,5e^{-6}$ este nevoie de o concentrație inițială de 800 nmoli, o valoare destul de mare. De aceea, folosind un modificator de permeabilitate care să corespundă unor valori ale coeficientului de difuzie cuprinse între $2*e^{-6}$ și $3*e^{-6}$ se obțin valori ale concentrației inițiale între 700 și 450 nmoli.

Scanned with OKEN Scanner

Fig.7.2. Curbe de nivel pentru aceeași concentrație

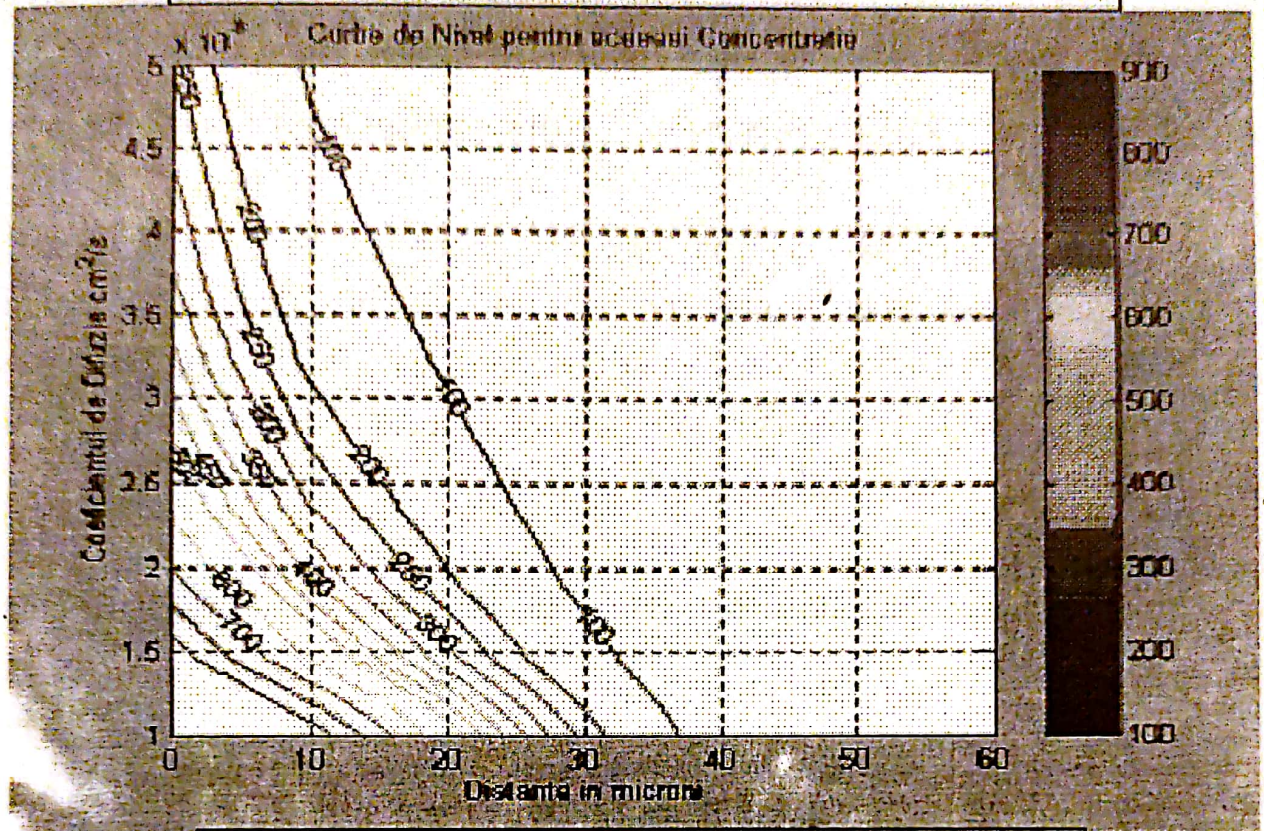
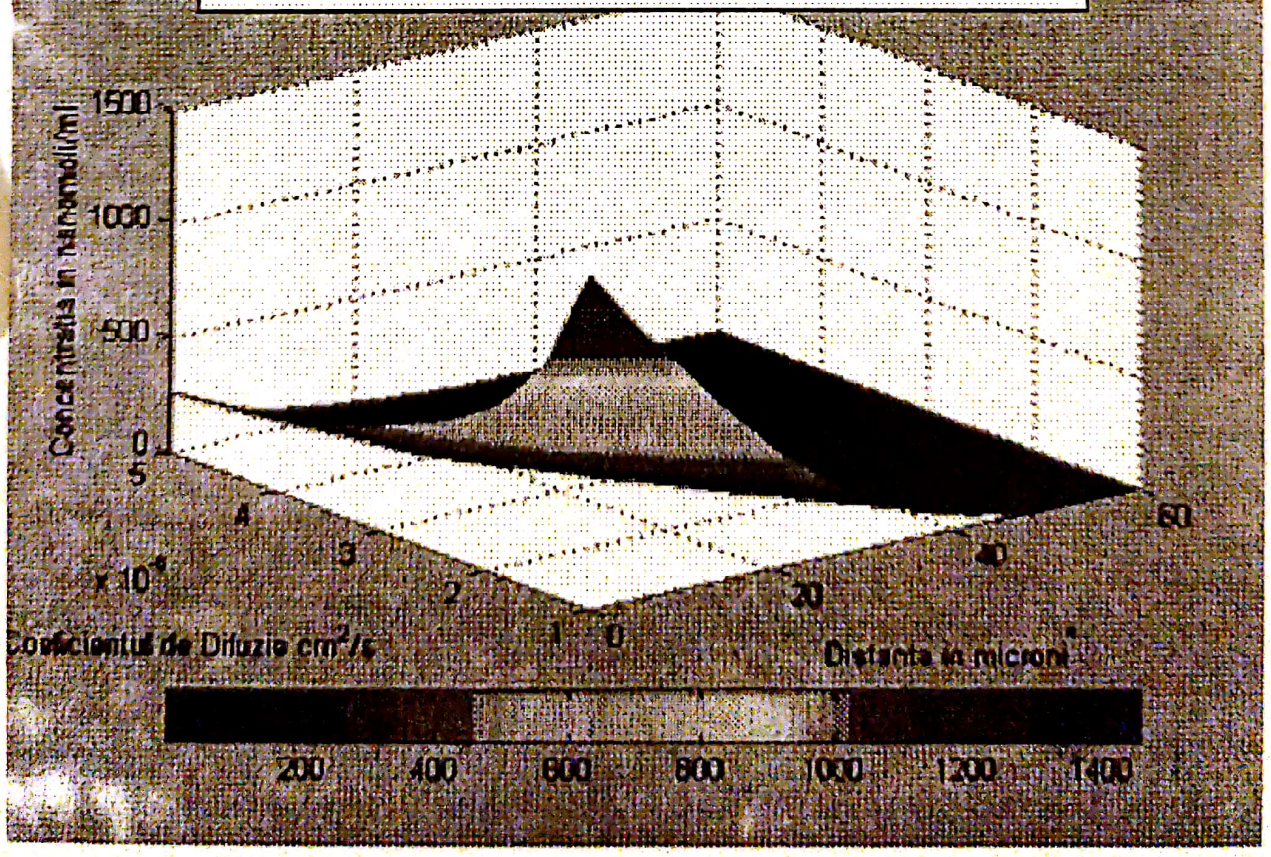


Fig. 7.3. Variația concentrației cu distanța

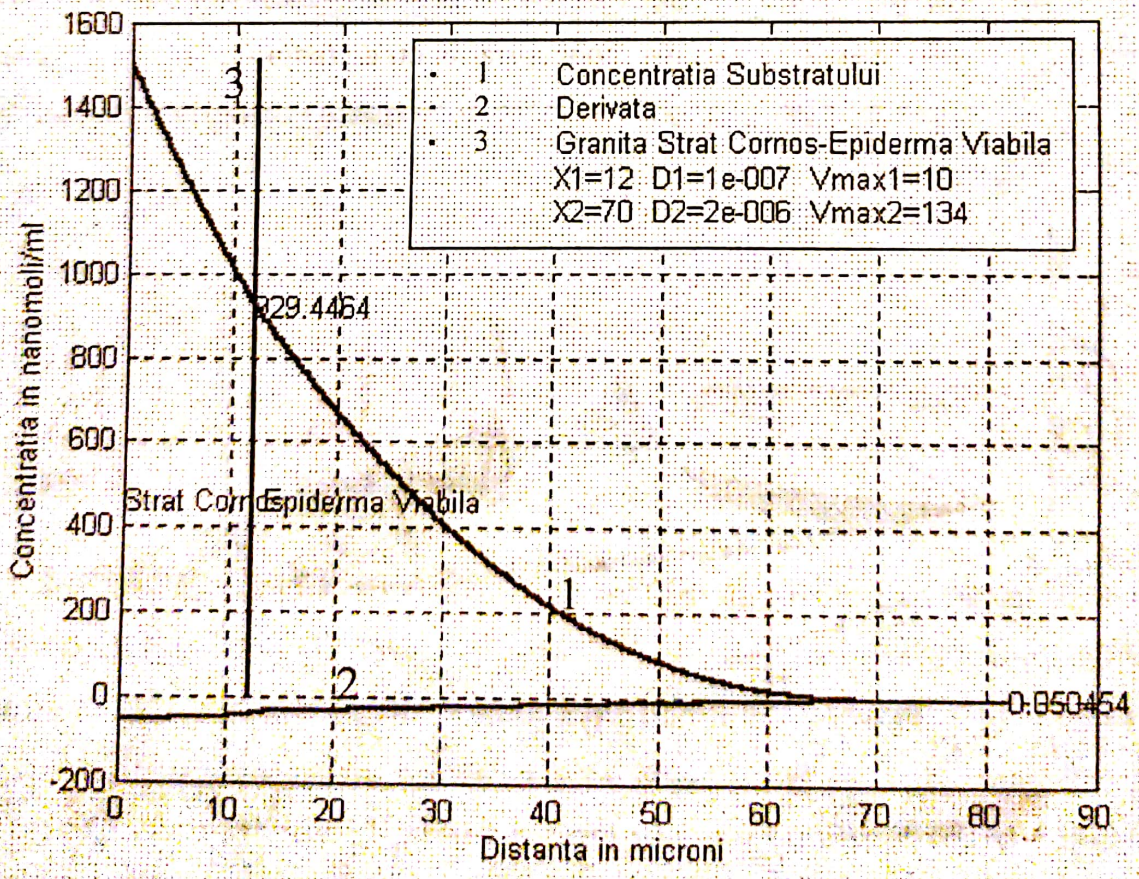


Exemplul 2 - Pacientul B.M., în vârstă de 65 ani suferă de angină pectorală. Datorită vârstei, pericolul apariţiei unei crize este mai mare şi de aceea trebuie urmărit cu mai multă atenţie. Este necesară utilizarea nitroglicerinei sub formă de patch.

Se ştie că pielea persoanelor vârstnice este mai groasă şi de aceea este nevoie de o concentraţie iniţială mai mare de p.a. în patch, pentru ca în plasmă să se ajungă la o concentraţie terapeutică eficace cuprinsă între valorile de 0,000528 şi 0,0484 nmoli. Grosimea stratului cornos este în acest caz de 12 μ, iar a epidermului viabil de 70 μ.

Pentru proiectarea unui sistem valabil în acest caz aplicăm secvenţele de program B1 şi B2.

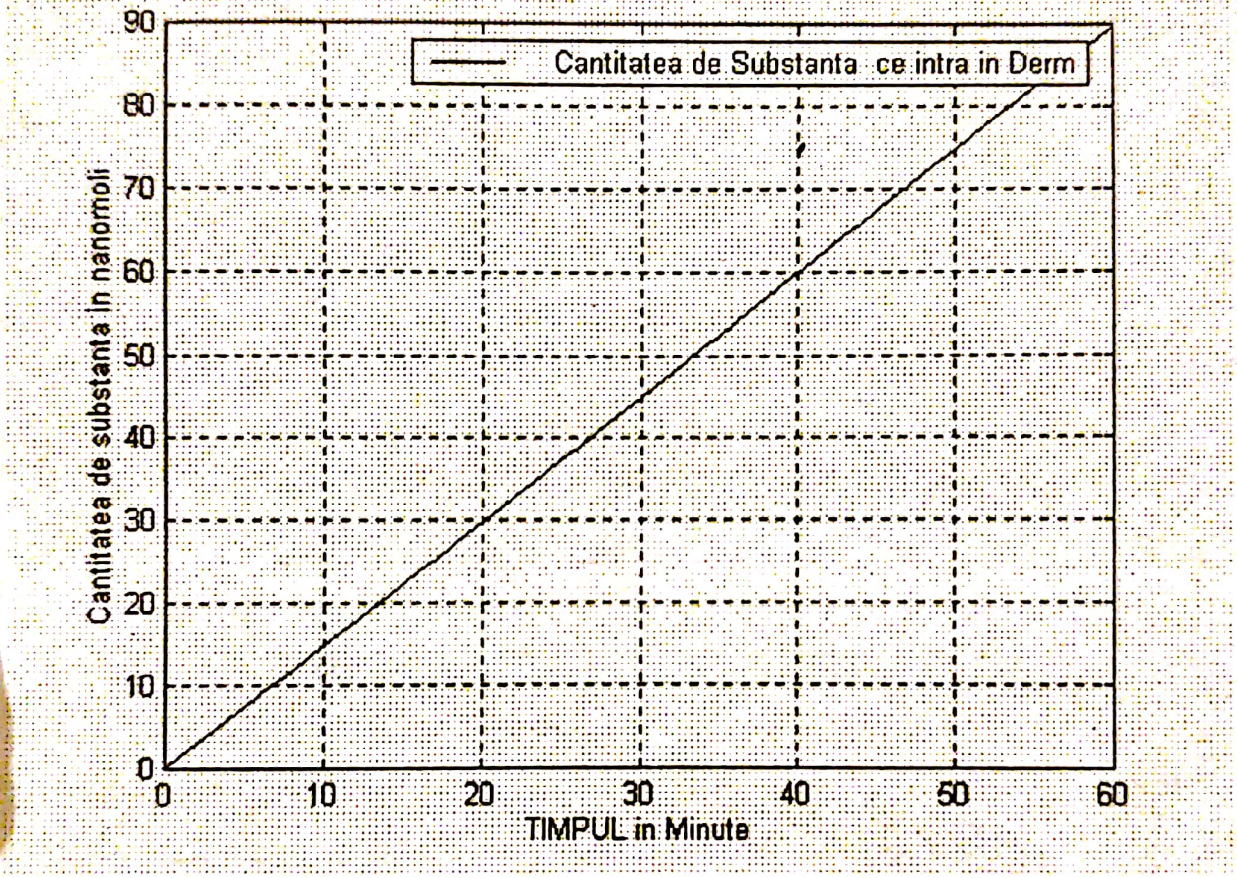
Fig. 7.4. Variaţia concentraţiei cu distanţa



După cum observăm din figura 7.4., concentraţia iniţială corespunzând valorii maxime a concentraţiei terapeutice este de 1509 nmoli.

În figura 7.5 se observă variaţia fluxului substanţei prin dermă.

Fig.7.5. Variaţia fluxului substanţei prin dermă



Se observă cum printr-o suprafaţă dată ($7cm^2$), intră o cantitate de 90 nmoli pe oră. Aplicând secvenţa B2 obţinem curbele de nivel pentru aceeaşi concentraţie (figura 7.6.), grafic după care se poate preciza care este concentraţia iniţială în patch.

În figura 7.7. sunt prezentate rezultatele aceleiaşi secvenţe de program, în reprezentare 3D.

Scanned with OKEN Scanner

Fig.7.6. Curbe de nivel pentru aceeași concentrație

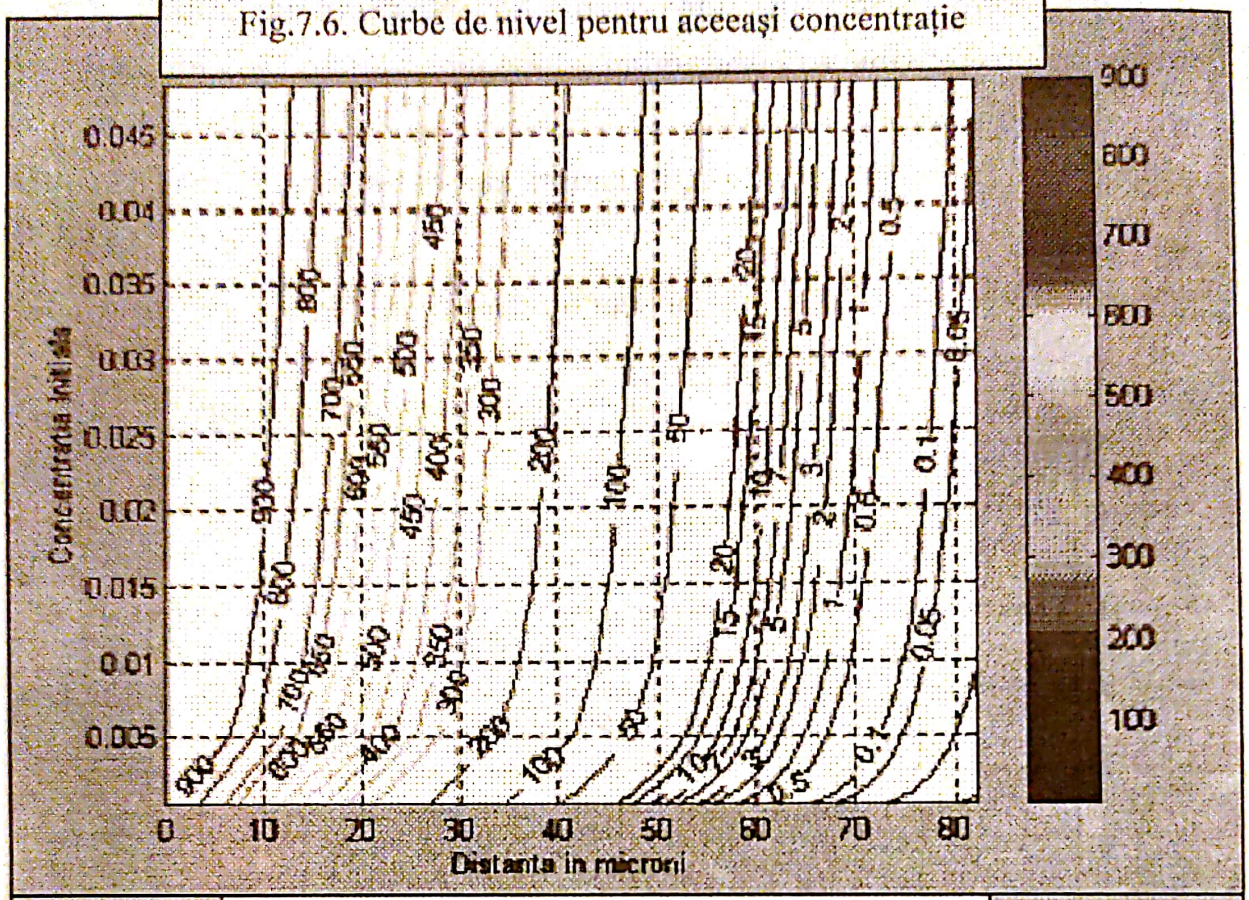
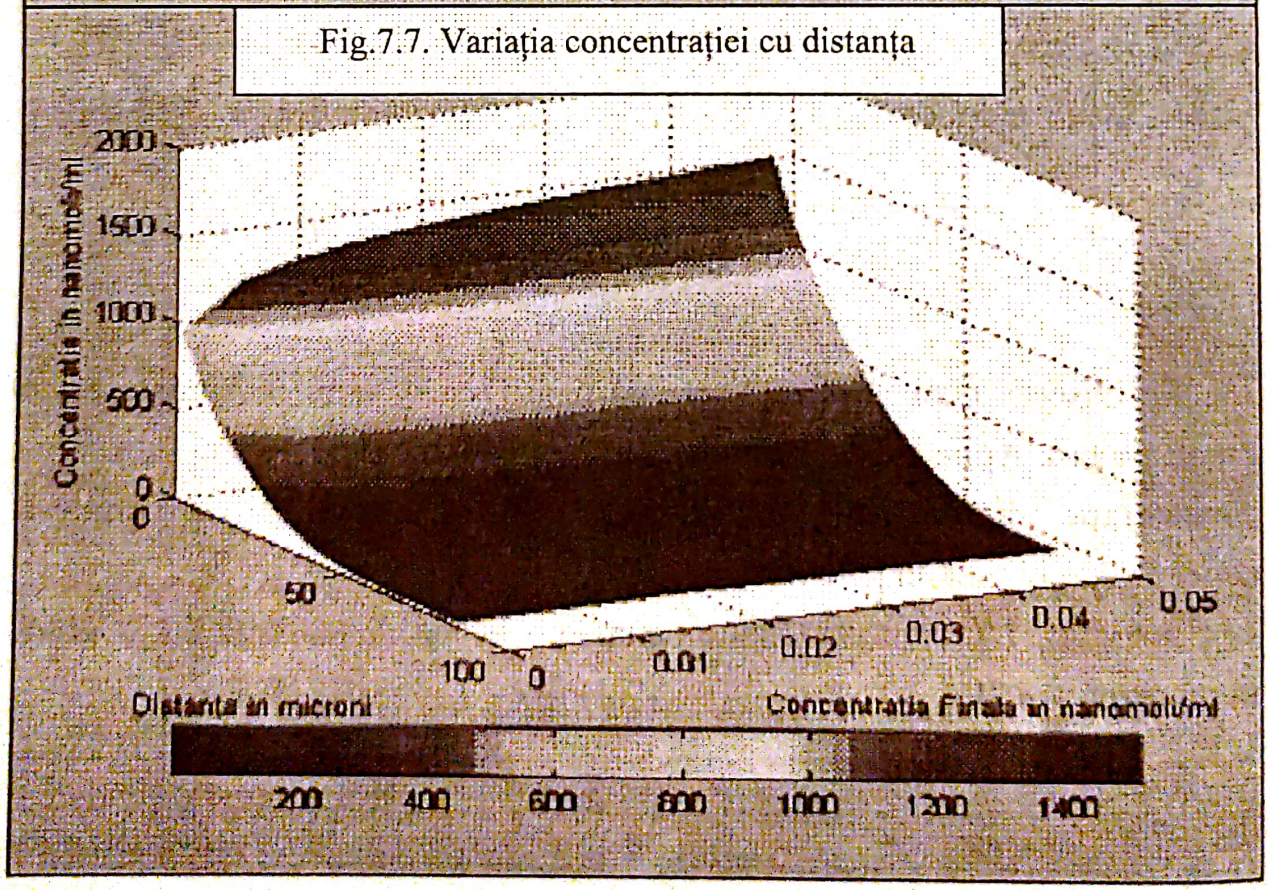


Fig.7.7. Variația concentrației cu distanța



Scanned with OKEN Scanner

Exemplul 3 - Pacienta A.M., în vârstă de 18 ani, suferind de psoriazis, este depistată de curând ca fiind o nouă candidată la angină pectorală. Îi este recomandată utilizarea unui patch cu nitroglicerină pentru prevenirea crizelor. Un asfel de caz implică şi luarea în calcul a stării pielii care, după cum se ştie, are în acest caz, o rată de descuamare foarte ridicată şi prin urmare există pericolul ca medicamentul să nu pătrundă în corp în cantitatea necesară, ori se poate ca patch-ul să nu rămână în contact ferm cu pielea.

Există mai multe tipuri de psoriasis dintre care cel *comun*, în care sunt leziuni stabile ale pielii, ce afectează în timp regiunea cotului sau a genunchiului; *psoriazis invers* este caracteristic vârstei tinere şi se localizează în regiunea axilară, regiunea submamelonară şi regiunea buricului. Acest din urmă tip este cel care ne interesează în cazul de faţă.

Prin urmare, pacienta trebuie să folosească un patch cu o cantitate mai mare de nitroglicerină pentru ca să poată pătrunde în piele. De asemenea, este necesară luarea în consideraţie a gradului de iritare al pielii care poate favoriza penetrarea mai bună a substanţei, în acelaşi timp însă poate crea probleme de acomodare a pacientei la patch. Se va urmări obţinerea unui SDC care să conţină o cantitate de nitroglicerină optimă alături de nişte modificatori ai permeabilităţii care să nu creeze iritaţii în plus. SDC-ul folosit trebuie să aibă un sistem adeziv foarte bun şi în acelaşi timp uşor de tolerat.

Scopuri ale proiectării computerizate:

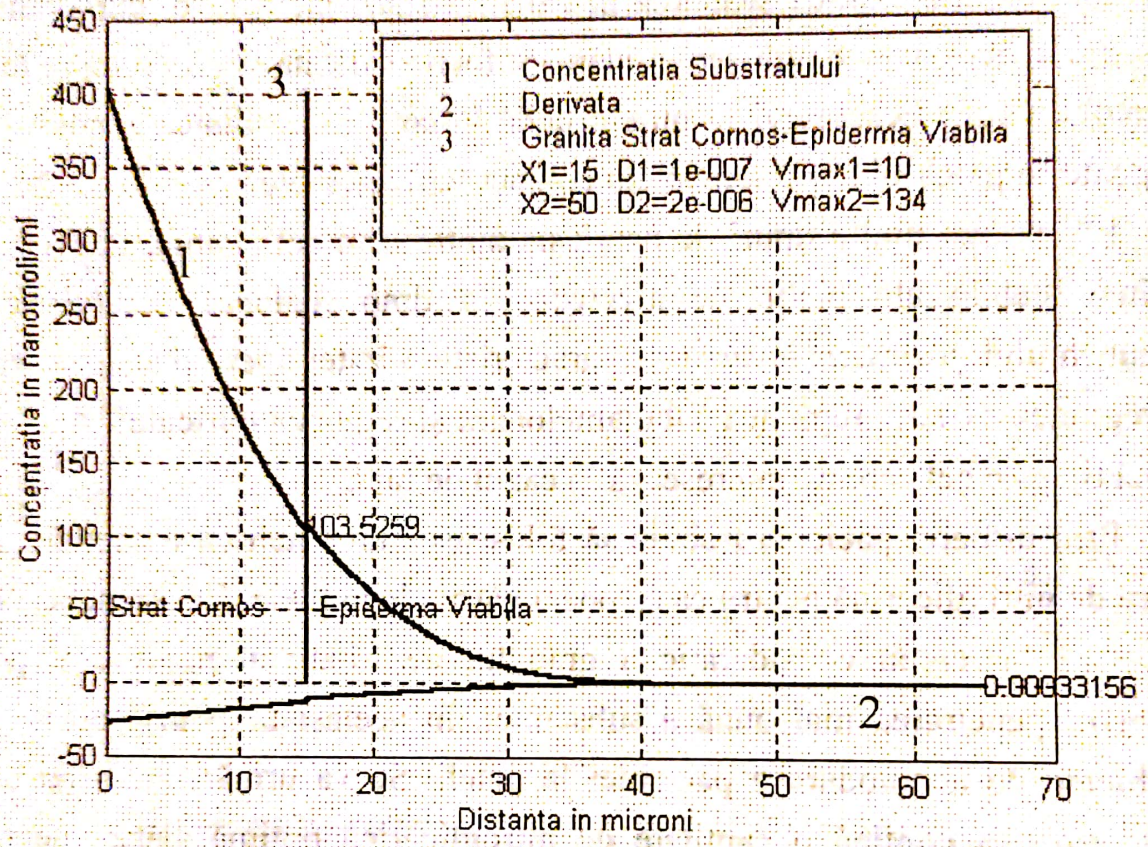
a. Considerăm că în patch vom folosi o concentraţie de 400 nmoli. Prin utilizarea secvenţei de program A1 vom afla care este concentraţia finală în plasmă şi dacă se încadrează în limitele valorilor terapeutice eficiente (0,000528- 0,0484). Grosimea stratului cornos este ceva mai mare decât în mod normal, de 15 μ, iar epiderma viabilă are o grosime normală de 50 μ.

b. De asemenea vom urmări valorile coeficientului de difuzie necesare obţinerii unei valori a concentraţiei egală cu 0,0484 prin folosirea secvenţei A3.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru punctul **a** fenomenul este descris de evoluția graficelor din figurile 7.8. și 7.9.

Fig.7.8. Variația concentrației cu distanța



Observăm că, în acest caz valoarea concentrației finale (0,000331) este mult sub valoarea minimă a concentrației terapeutice (0,000528).

Prin urmare este necesară folosirea unei concentrații inițiale mai mari în patch sau mărirea coeficientului de difuzie.

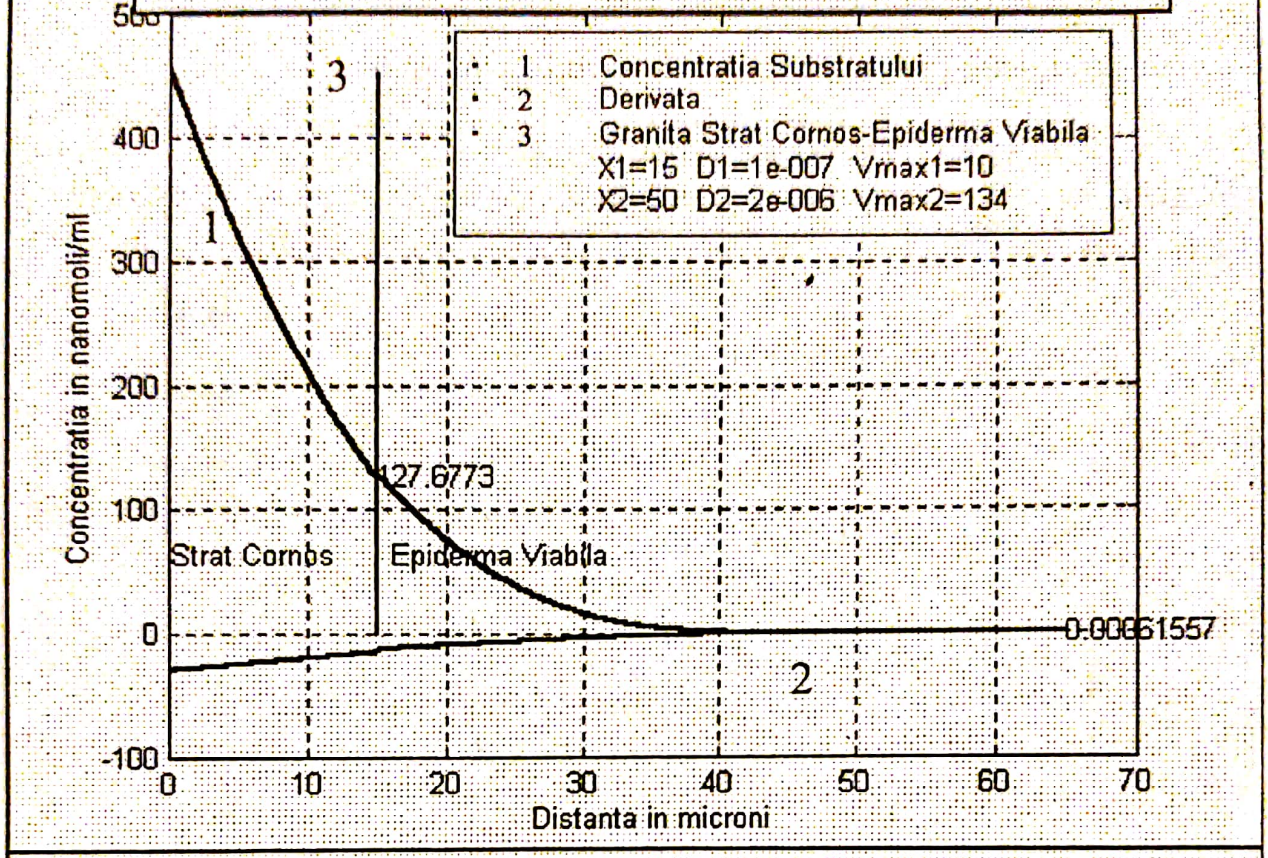
Pentru a găsi soluția punctului **b** prin utilizarea secvenței A2.

Dacă mărim concentrația inițială la valoarea de 450 nmoli vom obține graficul din figura 7.9.

În acest exemplu se ajunge în intervalul concentrațiilor terapeutice, atingându-se valoarea de 0,000615 nmoli.

Scanned with OKEN Scanner

Fig.7.9. Variația concentrației cu distanța în cazul folosirii unei concentrații inițiale mai mari



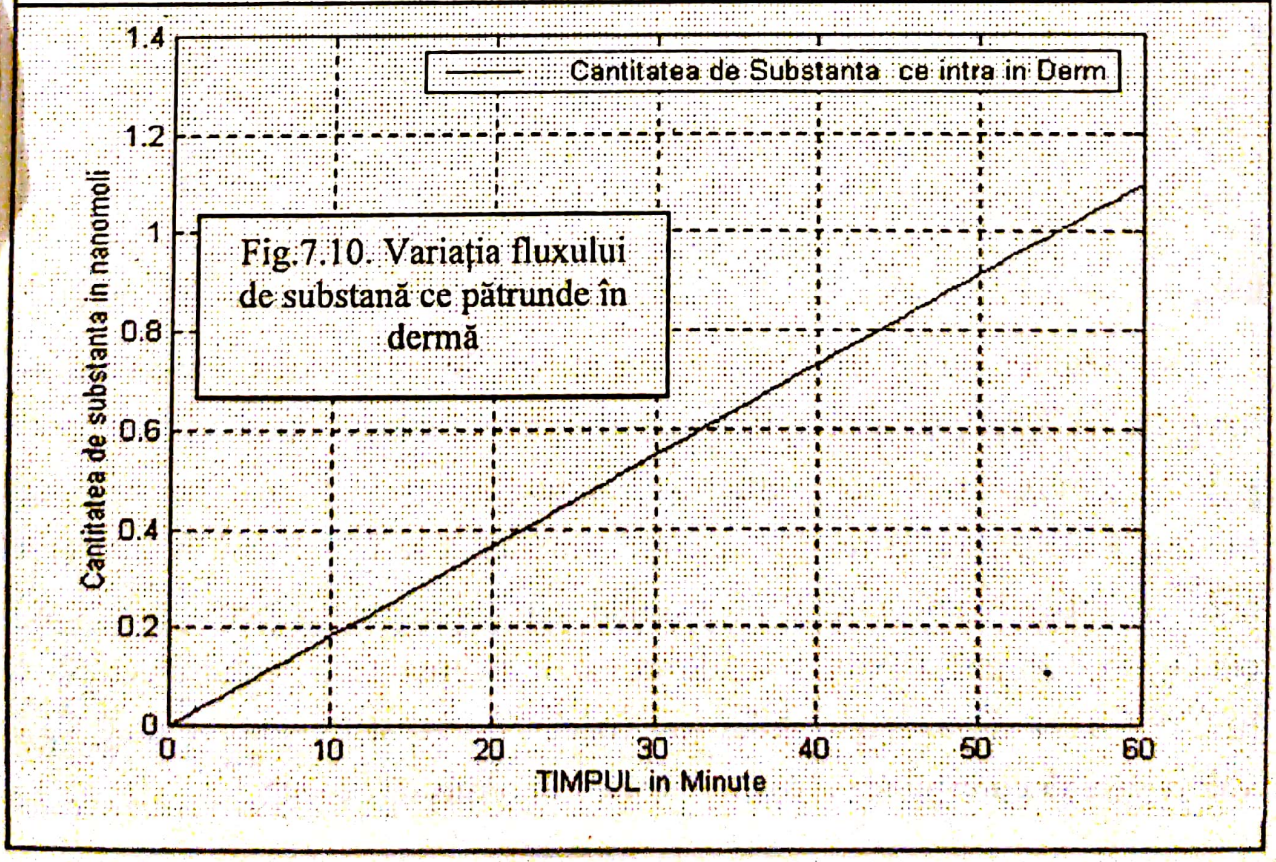


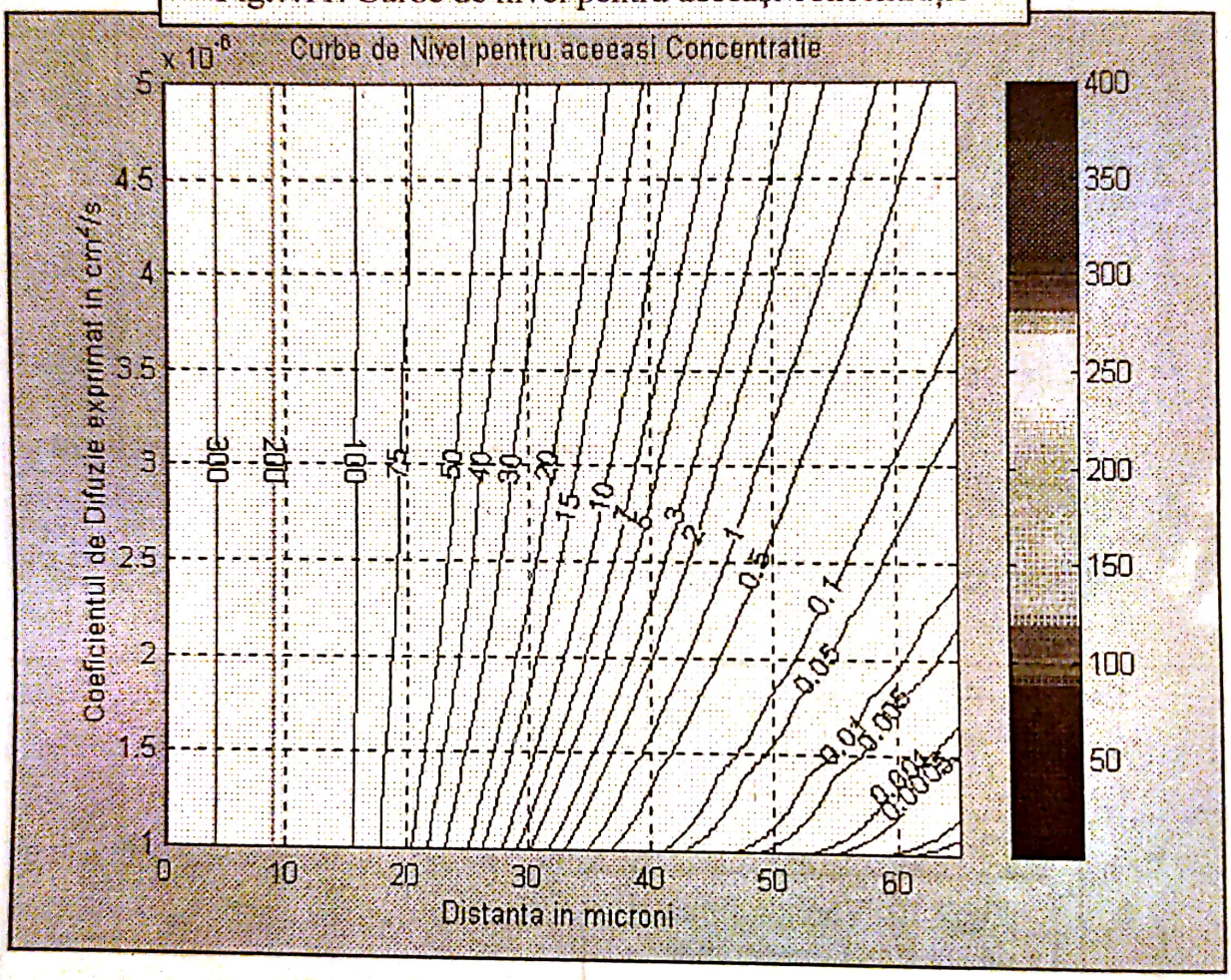
Fig.7.10. Variația fluxului de substanță ce pătrunde în dermă

Scanned with OKEN Scanner

La punctul **a** putem concluziona că în timp de o oră pătrunde o cantitate de 1,1nmoli de nitroglicerină.

În continuare prezentăm soluțiile pentru punctul **b**.

Fig.7.11. Curbe de nivel pentru aceeași concentrație



În cazul acesta se vede că la valori ale coeficientului de difuzie cuprinse între $1e^{-6}$ și $1,5e^{-6}$, concentrația finală din plasmă atinge valori între 0,00005 și 0,001 nmoli. Dacă limita inferioară a acestui interval nu atinge valoarea minimă a concentrației terapeutice, cea superioară se încadrează în intervalul concentrațiilor terapeutice. Pentru o mai mare siguranță și pentru a folosi o concentrație inițială medie, se tinde spre modificarea coeficientului de difuzie prin utilizarea de agenți chimici sau fizici. Din acest interval se aleg acele valori care să corespundă scopului urmărit în proiectarea dată.

Scanned with OKEN Scanner

Bibliografie selectivă

1.Barry B. W., *Dermatological formulations. Percutaneous absorption,* Ed. Marcel Dekker, Inc.New York, 1983
2.Boderke A. P., *Aspects of epidermal peptide metabolism for transdermal drug delivery: localization, modeling and prediction,* a dissertation submitted to the Swiss Institute of Technology Zuerich for the degree of Doctor of Natural Sciences, 1998
3.Chiriță M., *Biopolimeri și compozite naturale,* Colecția Bioinginerie Medicală, Editura Tehnică Info Chișinău, 2001
4.Chiriță M., Mayer S., *Modelarea matematică asistată de calculator a unor procese fizico-chimice de laborator și industriale,* Industria ușoară 34, nr.9, 1987
5.Chiriță M., Mayer S., *Program pentru determinarea ecuațiilor de regresie multifactorială,* Industria ușoară 35, nr.1, 1988
6.Chiriță Gh., Chiriță M., *Pielea animală,* Editura Tehnică, București, 1993
7.Chiriță Gh., Chiriță M., *Tratat de chimia și tehnologia pieilor,* Editura Gh. Asachi, Iași, 1999
8.Davis A. F., Hadgraft J., *The use of supersaturation in topical drug delivery* in Prediction of percutaneous penetration: Methods, Measurements, Modelling, vol.2, Oxford, 1991
9.Fox J.L., Yu C.D.,*General physical model for simultaneous diffusion and metabolism in biological membranes. The computational approach for the steady state,* Int. J. Pharm.2, 1979
10.Franz J.T., Tojo K., Shah R. Kishore, Kydonieus A., *Transdermal delivery* in Treatice on Controlled drug delivery, 341-415, Marcel Deker Inc., New York, 1991
11.Gluck A., *Metode matematice în industria chimică,* Editura Tehnică, București, 1971
12.Guy R. H., *Advanced Drug Delivery Reviews, Iontophoresis* , Theme Editor; 9 ,Issues 2/3, 1992
13. Hadgraft J. Walters K. A., *Pharmaceutical skin permeation enhancement,* Eds. Marcel Dekker, Inc. New York, 1993
14. Hăulică I., *Fiziologie umană,* ediția a II-a, Editura Medicală, București, 1997
15. Higuchi W.I., *Transdermal delivery of prodrugs,* Drug Dev. Ind.Pharm 9, 1983
16. Kao J., Carver M.P., *Cutaneous metabolism of xenobiotics,* Drug Metabolism Review, 22, 1990
17. Lelawongs P., Chien Y.U.,*Faciliated transdermal delivery of therapeutic peptides and proteins by iontophoretic delivery devices*, J. Controlled Realease 13, 1990
18. Mihail R., *Introducere în strategia experimentării, cu aplicații din tehnologia chimică"*, Editura Științifică și Enciclopedică, București, 1976

Scanned with OKEN Scanner

19. Mihail R., *Modele cinetice de polireacţii,* Editura Ştiinţifică şi Enciclopedică, Bucureşti, 1986
20. Mitragori S. Langer R., *Ultrasound-mediated transdermal protein delivery,* Science, 269, 1995
21.Potts R.O., Wong O., *Transdermal peptide delivery using electroporation",* Pharm biotech 10, 1997
22.Potts R. O. , Guy R. H., *Mechanisms of transdermal drug delivery,* Eds. Marcel Dekker, Inc. New York,1997
23. Schaefer H., Redelmeier, *Skin barrier. Principles of percutaneous absorption,* Eds. Karger AG, Basel, 1996
24. Schittkowski K., *Parameter estimation in one dimensional, time dependent partial differential equations",* Optimization Methods and Software,7, 1997
25. Schittkowski K., *EASY-FIT Version 2.0: Parameter estimation in dynamic systems-User' s Guide",* Report, Department of Mathematics, University of Bayreuth, 1996
26. Schittkowski K., *Optimal Control of One-Dimensional Partial Differential Algebraic Equations with Applications",* Report, Department of Mathematics, University of Bayreuth,1995
27. Smith E.W., Maibach H.I., *Percutaneous penetration enhancers,* CRC Press, Boca Raton, 1995
28. Steinstrasser I., *The organized HaCaT cell culture sheet: A model approach to study epidermal peptide drug metabolism",* Shaker, Aachen, 1994
29. Steinstrasser I., Merkle H., *Dermal metabolism of topically applied drugs: Pathways and models reconsidered",* Pharmaceutica Acta Helvetiae, 70, 1995
30. Steinstrasser I., Merkle H., *Physical model relating diffusional transport and concurrent metabolism of peptides in metabolically active cell sheets,* J. Pharm Science 84, 1995
31. Stroescu V. şi colab., *Farmacologie,* Editura ALL, Bucureşti, 1997
32. Stinchomb Al., Dua R., *Permeation of buprenorphine and its 3-1lkyl-ester prodrugs through human skin",* Pharm Res 13:1519-23, 1996
33. Sugibayashi K., *Analysis of simultaneous transport and metabolism of ethyl nicotinate in hairless rat skin"* Pharm Res 13:855-860, 1996
34.Swarbrick J., Lee G., *Drug permeation through human skin - Effect of storage conditions of skin,* J. Invest Derm. 78, 1982
35. Tojo K., Valia K.H., *Lond term permeation kinetics of estradiol,* Drug Dev Ind Pharm 11:1175-1193, 1985
36. Vieth W.R., *Membrane Systems: Analysis and Design,* Oxford University Press, New York, 1998
37. Wester R.C., *Pharmacokinetics and bioavailability of intravewnous and topical nitroglycerinin the rhesus monkey,* J Pharm Sci 72:745-8, 1983
38. Yalkowsky S.H., *Solubility and Solubilisation of Nonelectrolites,* Techniques of Solubilisation of Drugs, Eds. Marcel Dekker, New York, 1981

Scanned with OKEN Scanner

VI

Tehnologia genei în tratamentul hemofiliei umane

Angela PAVEL

CUPRINS

1.Principiile Tehnologiei ADN-ului recombinant 277
1.1 Terapia genică. O nouă abordare a tratamentelor maladiilor umane 280
283
1.1.1. Metode nonvirale ale transferului de gene 283
1.1.1.1. Transfecția mediată de fosfatul de calciu 285
1.1.1.2. Transformarea ADN din plasmide pure 285
1.1.1.3. Liposomii 285
1.1.1.4. Electroporarea 285
1.1.1.5. Transferul genei prin microinjecții
1.1.1.6. Bombardarea celulelor cu microproiectile ambalate 286
cu ADN sau tehnica "*gene gun*" 286
1.1.1.7. Metoda "cocktail" de transfer al genelor 288
1.1.2. Metode virale de transfer a AND 288
1.1.2.1. Retrovirusurile recombinante 290
1.1.2.2. Lentivirusurile recombinante 291
1.1.2.3. Adenovirusurile recombinante 292
1.1.2.4.Vectorii virali adeno-asociați 292
1.1.2.5.Virusul herpetic recombinant 293
1.1.2.6.Cromosomul episomal artificial uman 293

Scanned with OKEN Scanner

VI

Tehnologia genei în tratamentul hemofiliei umane

Angela PAVEL

CUPRINS

1.Principiile Tehnologiei ADN-ului recombinant 277
1.1 Terapia genică. O nouă abordare a tratamentelor maladiilor umane 280
283
1.1.1. Metode nonvirale ale transferului de gene 283
1.1.1.1. Transfecția mediată de fosfatul de calciu 285
1.1.1.2. Transformarea ADN din plasmide pure 285
1.1.1.3. Liposomii 285
1.1.1.4. Electroporarea 285
1.1.1.5. Transferul genei prin microinjecții
1.1.1.6. Bombardarea celulelor cu microproiectile ambalate cu ADN sau tehnica "*gene gun*" 286
286
1.1.1.7. Metoda "cocktail" de transfer al genelor 288
1.1.2. Metode virale de transfer a AND 288
1.1.2.1. Retrovirusurile recombinante 290
1.1.2.2. Lentivirusurile recombinante 291
1.1.2.3. Adenovirusurile recombinante 292
1.1.2.4.Vectorii virali adeno-asociați 292
1.1.2.5.Virusul herpetic recombinant 293
1.1.2.6.Cromosomul episomal artificial uman 293

Scanned with OKEN Scanner

2. Hemofilia maladie genetică X-linkată 294
2.1.Caracteristicile genetice ale hemofiliilor umane 294
2.1.1. Hemofilia A 295
2.1.2. Hemofilia B 295
2.2. Patologia moleculară a hemofiliei 295
2.3. Diagnoza prenatală a hemofiliei 296
2.3.1.Tehnici de diagnostic molecular 297
2.3.1.1. Tehnica *Southern blotting* 297
2.3.1.2. Amplificarea ADN prin metoda polimerizării în lanț pentru detectarea mutațiilor 298
2.3.1.3. Tehnica hibridizării fluorescente *in situ* 299
2.4. Ingineria genetică a hemofiliilor 299
2.4.1. Factorul VIII recombinant 301
2.4.2. Modele de animale pentru testarea preclinică a terapiei genice a hemofiliilor 301
2.4.2.1. Transferul genei *in vivo* 302
2.4.2.2. Transferul genei *ex vivo* 303
2.4.3. Terapia genică şi relația doză - răspuns 304

3. Perspectivele dezvotării tehnologiei ADN recombinant 305
3.1. Terapia genică-realizări şi promisiuni 305
3.2. Beneficiile utilizării factorilor de coagulare recombinanți în tratarea hemofiliilor 307
3.3. Proiectul Genomul uman 308

Bibliografie 311

Scanned with OKEN Scanner

Tehnologia genei în tratamentul hemofiliei umane

Angela PAVEL

1.Principiile tehnologiei ADN-ului recombinant

Dezvoltarea impetuoasă a tehnologiei ADN-ului recombinant, cu ajutorul căreia s-a realizat depăşirea barierelor naturale dintre specii, a avut ca rezultat revoluționarea cercetărilor biologice şi medicale.

Prin intermediul acestei tehnologii, se poate efectua izolarea şi inserarea unei secvențe de ADN exogen, prin intermediul unui vector, într-o celulă-țintă cu genom ADN, prin procesul de transformare a moleculelor de ADN recombinant, unde pot fi amplificate prin clonare, în scopul producerii unei proteine specifice (figura 1).

Prin definiție, tehnologia celulei animale este acea parte a ingineriei genetice care foloseşte celule animale (inclusiv celule umane) propagate *in vitro*, pentru sinteza produselor biologice. Principalul domeniu de aplicabilitate a tehnologiei celulei animale este cel medical şi farmaceutic.

La începutul secolului al XIX-lea, tehnologia celulei animale asigura deja vaccinurile împotriva variolei şi rabiei, deşi aceste vaccinuri erau produse în animalele vii. În secolul al XX-lea, cunoştințele din multe domenii ale ştiințelor vieții au sporit cu rapiditate.

În anii '50, acestea au condus la cultivarea *in vitro* a celulelor pentru producerea unor mari cantități de vaccinuri împotriva poliomielitei.

Alte vaccinuri împotriva maladiilor umane sau animale, ca rubeola, pojarul etc. au fost urmate curând de altele. În plus, tehnologia celulei animale a asigurat metode utile pentru testarea de noi preparate farmaceutice şi instrumente de diagnosticare.

O nouă cotitură în tehnologia celulei animale a avut loc la sfârşitul

Scanned with OKEN Scanner

anilor 1970 şi începutul anilor 1980 cu descoperirile tehnologiei ADN recombinant şi a Tehnologiei hibridoma.

Prin Tehnologia hibridoma a fost posibilă producerea *in vitro*, în cantităţi nelimitate, a aşa numiţilor anticorpi monoclonali (anticorpi capabili să recunoască un singur tip de antigene) de înaltă calitate şi specificitate, în timp ce înainte, anticorpii puteau fi produşi numai în animalele vii în cantităţi foarte variate.

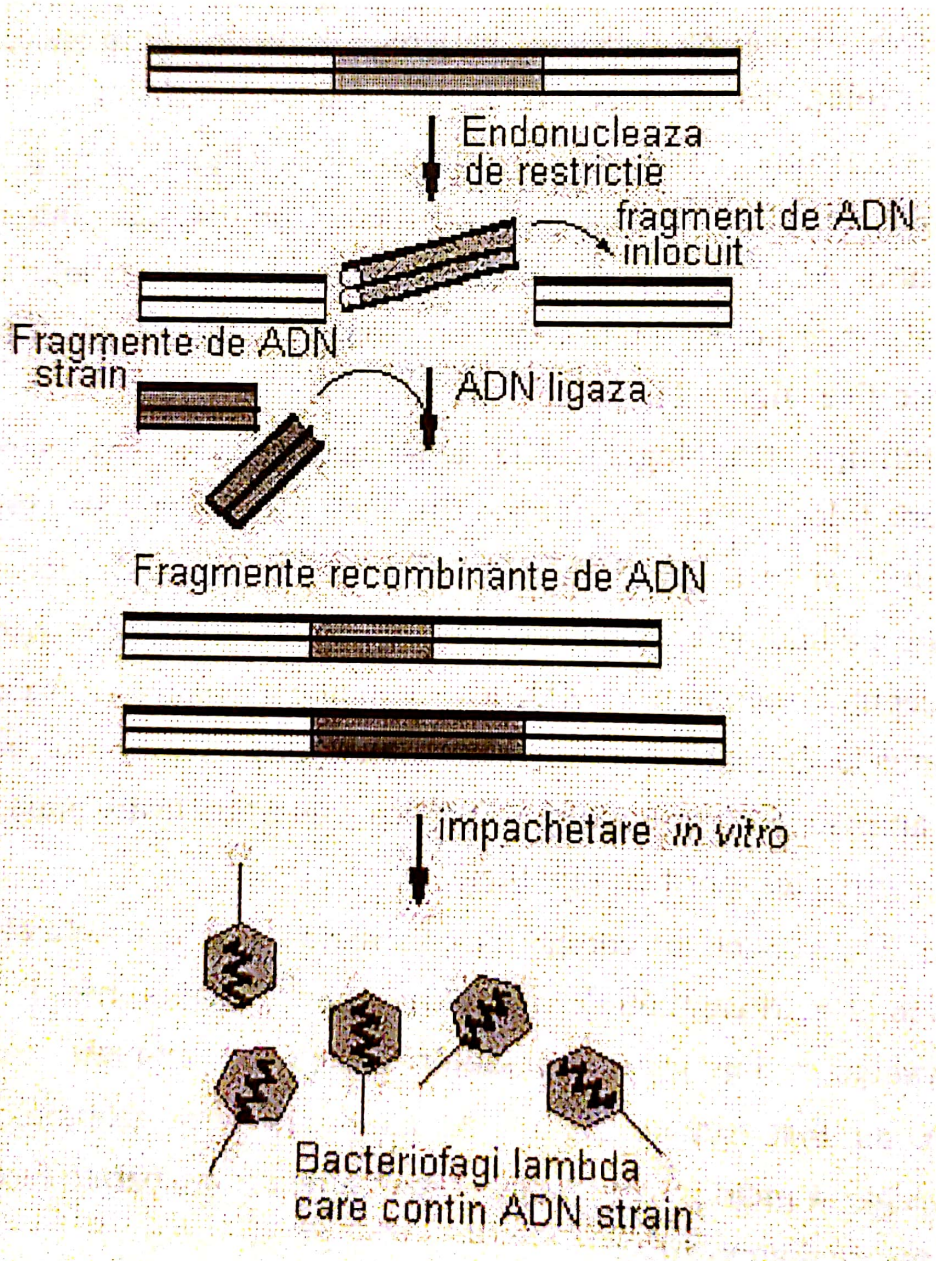


Fig.1. Etapele tehnologiei ADN recombinant

În timp ce multe proteine sunt sintetizate în celulele animale, producția eficientă a acestora este adesea mult prea scăzută. Tehnologia ADN-ului recombinant permite o producere mult mai eficientă a lor în celulele animale sau chiar producerea de proteine "animale" în celule non-animale.

Tehnologia ADN recombinant - denumită şi ingineria genetică - face posibilă transferul unei anumite gene dintr-o celulă în alta, iar celulele transformate sintetizează produsul corespunzător genei inserate. Celulele animale sunt cultivate *in vitro* prin asigurarea aceloraşi condiții pe care le au în mediul lor natural, organismul. Ele au nevoie de un mediu de cultură complex şi balansat, care conține ca substrat: glucoză, aminoacizi, vitamine, săruri, microelemente şi altele. Culturile efectuate la scară redusă sunt menținute în flacoane Erlenmeyer sau cutii Petri, la 37°C la incubator.

Cultivarea pe scară largă, în scopuri industriale, este în general realizată în bioreactoare - tancuri mari din oțel inoxidabil, menținute în condiții de agitare uşoară şi aerare pentru suplimentarea oxigenului.

În aceste sisteme, celulele cresc, se multiplică şi în cazul celulelor recombinante, eliberează proteine umane în mediul de cultură, de unde ele sunt purificate şi preparate în scopul îndeplinirii funcției lor de vindecare.

Dezavanatajele folosirii celulelor animale ca "fabrici" de produşi sunt costurile ridicate de producție, în comparație cu cultivarea celulelor bacteriene sau de drojdie, şi cantitățile relativ scăzute de proteine produse. Din acest motiv, se depun eforturi susținute de dezvoltare mai puternică şi producere in cantități mai ridicate a liniilor celulare-gazdă.

În prezent, produsele tehnologiei celulelor animale includ proteine larg utilizate pentru tratamentul maladiilor cardiovasculare (țesut plasminogen activator: TPA), fibroza chistică (Dnaze), anemie (eritropoietina: EPO), hemofilia (factorii VIII şi IX de coagulare), cancerul şi infecțiile virale (interferoni, interleukine), scleroza multiplă (interferon) şi piticismul (hormonul uman de creştere: STH).

Scanned with OKEN Scanner

1.1 Terapia genică. O nouă abordare a tratamentelor maladiilor umane

Celulele animale cultivate stau la baza unui nou domeniu - al terapiei genice (figura 2). Prin terapie genică, nu se încearcă tratarea unei anumite boli prin administrarea a proteinei lipsă sub formă de medicament; în loc, se încearcă transferul genei corespunzătoare la pacient, astfel încât el să poată produce produsul corect al genei (proteina).

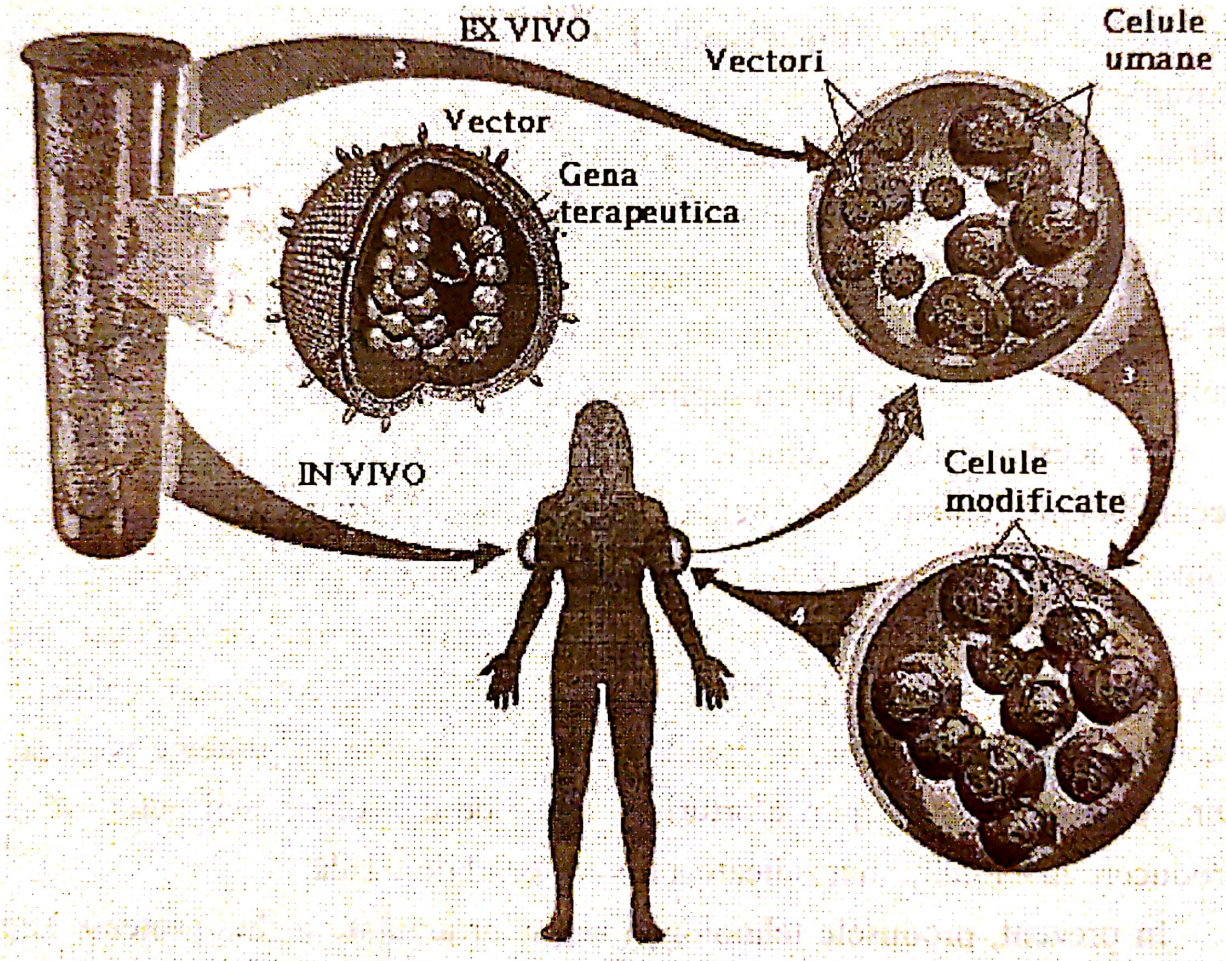


Fig. 2. Terapia genică şi tipurile de transmitere a genei: *ex vivo* (sus) şi *in vivo* (jos).

În principiu, acest transfer poate asigura chiar însănătoşirea pacientului, astfel că acesta va beneficia de activitatea genei, dar aceasta nu va fi moştenită prin generaţiile următoare. O astfel de metodologie, cunoscută ca

terapia genică somatică, se poate dezvolta cu succes pe celulele animale sau umane. Terapia liniei germinale este actualmente considerată a fi etic inacceptabilă.

Terapia genică are scopul de a trata, remedia sau preveni maladiile prin schimbarea expresiei genei persoanei afectate. In funcție de modul de acțiune, terapia genică poate fi:

- ***Terapia genică monogenică***, care furnizează gene care codifică producerea unei proteine specifice lipsă sau nefenotipizată pentru a remedia o maladie monogenică (determinată de o singură genă);
- ***Terapia genică suicidă***, care înlesneşte distrugerea celulelor canceroase de către celule "sinucigaşe";
- ***Terapia genică antisens***, care permite unei gene cu structură monocatenară, cu o orientare antisens, să blocheze producerea unor proteine defective.

Terapia genică are potențialul de a remedia maladiile genetice şi cele dobândite, cum sunt cancerul, SIDA şi bolile cardiovasculare (Tabel 1). Maladiile genetice, ca hemofilia, distrofia musculară şi fibroza chistică sunt provocate de o genă mutantă, incapabilă de producerea unei proteine viabile. Tratamentul constă în introducerea versiunii corecte a genei în organismul pacientului, restaurându-se astfel, producerea proteinei normale.

Odată ce sunt determinate codul genetic şi celulele-țintă, trebuie alese mijloacele efective de transfer al genei în celula-țintă.

Există două mecanisme principale de introducere a genei terapeutice în nucleul celulei:

- Tehnica *ex vivo*, fiind cea mai comună, în care celulele sunt preluate din țesutul dorit şi expuse transferului genic vectorial. Celulele tratate sunt apoi reintroduse în organism, unde vor produse produsele terapeutice în țesutul corespunzător,

Scanned with OKEN Scanner

• Metoda de introducere *in vivo* a genei de interes cu ajutorul vectorilor, direct în țesutul selectat.

Tabelul 1

Maladiile tratate prin terapie genică
(RV-retrovirusuri recombinante; AV-adenovirusuri recombinante; HSV-Herpes simplex recombinant; ID-injectare directă; L-lipofecție)

Maladia umană	**Țesuturi țintă**	**Gena corectoare**	**Sisteme de transmitere**
Moștenite			
Deficiența adenozin dezaminazei	Celule hematopoetice	ADA	RV
Deficiența antitripsinei alfa-1	Fibroblaste, Hepatocite, celule epiteliale pulmonare	Antitripsina Alfa-1 (α1)	RV
Maladia Alzheimer	Sistemul nervos	Factorul nervos de creștere	RV,AV,HSV
Fibroza chistică	Celule epiteliale pulmonare	CFTR	RV
Hipercolesterolemia familială	Hepatocite	Receptorul LDL	RV,AV
Distrofia musculară Duchenne	Celule musculare	Distrofina	AV, ID
Hemoglobopatiile	Celule hematopoetice	CD-18 (constituienți ai hemoglobinei)	RV
Hemofilia	Fibroblaste,cheratocite,hepatocite,celule musculare	Factorii VIII, IX	RV,ID,L
Moștenite			
Cancerul	Tumori , carcinoame, melanoame, limfoame, retinoblastoame	HSV timidin kinaza, interferon gama, factorul de necroză tumorală, gena retinoblastomului	RV

Scanned with OKEN Scanner

Maladii infecţioase	Virusul imodeficienţei umane (HIV)		RV
Emfizemul pulmonar	Celule epiteliale pulmonare	Antitripsina alfa-1	AV

Metodologiile generale ale transferului de gene în celule sunt grupate în: metode nonvirale (transfecţie) şi virale (transducţie).

1.1.1. Metode nonvirale ale transferului de gene

Aceste metode folosesc mijloace fizico-chimice, care permit injectarea directă a materialului genetic în ţesuturi. Expresia lor însă, este tranzitorie şi injecţiile trebuie administrate repetat pentru menţinerea unui nivel constant al expresiei genei. Cu toate acestea, este dificilă localizarea precisă a zonei de acţiune şi eficienţa lor nu este întotdeauna ridicată.

Pentru îmbunătăţirea acestei cerinţe, ADN este adăugat unor substanţe (de exemplu, polilizină) care permit genelor să traverseze membranele celulare (1, 2, 3). Metodele nonvirale prezintă unele limitări legate şi de dimensiunea genei transferate (4).

Metodele non-virale de transfer al genelor includ următoarele procedee:

1.1.1.1. Transfecţia mediată de fosfatul de calciu

Este prima metodă utilizată şi cea mai larg folosită. În acest sens, ADN corespunzător genei de interes este mixat cu o soluţie tampon fosfat de calciu, pentru a forma un coprecipitat ADN-fosfat de calciu.

Acest precipitat este adăugat culturilor de celule care îl preiau prin endocitoză. Absorbţia celulară este intensificată printr-un şoc scurt cu glicerol pentru permeabilizarea membranelor.

În final, după transfecţie, celulele conţin copii multiple de ADN cu o durată a expresiei genelor sale pentru numai un timp limitat (circa 2 zile)(1).

Scanned with OKEN Scanner

1.1.1.2. Transformarea ADN din plasmide pure

În transformarea cu $CaPO_4$ se pot folosi plasmide pure, obținându-se integrarea directă a acestora în cromosomi, în mai multe copii, la locusuri diferite. Sunt integrate astfel, 1 până la 15 copii, cu ajutorul tehnicii electroporării. S-a constatat în celulele-țintă recombinarea și conversia genică, numai după o oră după introducerea ADN străin în nucleu.

1.1.1.3. Liposomii

Realizați din lipide cationice, liposomii sunt folosiți pentru transferul *in vitro* și *in vivo* a genelor în celule. Liposomii unilamelari, de aproximativ 100nm în diametru, sunt preparați dintr-o mixtură de lipide cationice și lipide neutre.

Liposomii standard sunt preparați dintr-un amestec lipidic dizolvat în cloroform, evaporat până la uscare, resuspendată în apă și supusă sonicării. Liposomii cationici rezultați, sunt mixați cu ADN pentru formarea unui complex necovalent, între liposomii cationii încărcați pozitiv și moleculele de ADN încărcate negativ.

Procesul de transfer al genei (lipofecția) este reprezentat de simpla amestecare a complexului ADN/liposom cu celulele. Transferul genic apare atunci când complexul ADN/liposom este adăugat celulelor. Ca și transfecția cu fosfat de calciu, copiile genei ($2\text{-}5 \times 10^{-4}$) sunt integrate stabil în numai câteva celule (4).

1.1.1.4. Electroporarea

Electroporarea este o tehnică de transmitere *ex vivo* și este o metodă similară ca mecanism, multor metode de transfecție. Astfel, ADN corespunzător genei de interes este mixat cu o suspensie de plasmide și

Scanned with OKEN Scanner

celule, apoi sunt introduse într-o cameră specială şi supuse unui voltaj înalt sub formă de şocuri (2,0-4,0 KV), la 0°C. După 10 minute, celulele sunt transferate pe mediu proaspăt şi crescute câteva zile înainte de selecție. Aceste celule pot fi izolate, folosind o genă-marker dominantă, selectabilă în anumite condiții de creştere (3).

Electroporarea este cea mai utilizată în modificarea genetică a liniilor celulare şi nu este folosită direct în scopul terapiei genice, datorită distrugerii majorității celulelor şi eficienței scăzute a stabilității transferului genic.

1.1.1.5. Transferul genei prin microinjecții

Este o metodă de transfer *in vivo* a genei de interes.

Numeroase relatări au arătat că o simplă injecție cu ADN (de circa 10-11ml) în muşchii scheletici sau cardiaci de la unele rozătoare (5), folosind o micropipetă de sticlă, poate modifica genetic aceste țesuturi. Celulele musculare par a avea capacitatea de a prelua şi de a determina expresia ADN-ului injectat. După o singură injecție în muşchiul cvadriceps de la şoareci, eficiența transferului genic a fost de 10 până la 30% de celule la punctul de injectare sau 1,5% la nivelul întregului cvadriceps.

Implantarea de granule de ADN este de asemenea un mijloc eficient de transmitere a genelor în celulele musculare. Se pot injecta între 500 şi 1000 celule/oră într-o proporție de 50-100%. Expresia genelor inserate persistă de obicei, peste două luni, dar nu par a fi integrate stabil.

O aplicativitate potențială a terapiei genice prin injecția ADN ar putea fi corecția maladiilor genetice care afectează în primul rând, muşchii. O copie normală a genei care este defectivă, în cazul distrofiei musculare Duchenne, poate fi fenotipizată după injecția intramusculară la şoareci a ADN-ului corespunzător genei distrofinei.

Rezultate similare au fost relatate şi la unele primate.

Scanned with OKEN Scanner

1.1.1.6. Bombardarea celulelor cu microproiectile ambalate cu ADN sau tehnica "*gene gun*"

O altă metodă fizică de transmitere a genei la celule este bombardarea celulei cu microproiectile care conţin ADN.

Se folosesc în acest scop, particule de tungsten sau aur inerte biologic, de aproximativ 1 μm diametru, învelite într-un precipitat de fosfat de calciu-ADN. Aceste microproiectile învelite în ADN sunt înărcate într-un macroproiectil. Folosind forţa descărcării prafului de puşcă, cu viteza de 430 m/sec., macroproiectilele sunt accelerate printr-o cameră cu vacuum, până se lovesc de o placă opritoare, care determină eliberarea microproiectilelor de ADN printr-o perforaţie a sa.

Deşi această tehnică a fost la început realizată pentru penetrarea pereţilor celulari ai celulelor vegetale, procedura a fost adaptată cu succes culturilor de celule de mamifere. După bombardarea particulelor, multe celule ale culturii fenotipizează gena inserată, dar numai câteva conţin copii ale genei integrate stabil în genomul lor (10^{-3}-10^{-4}).

Versiunea pe animale a tehnicii "genes gun" a fost îmbunătăţită şi folosită pentru modificarea genetică *in vivo* a ţesuturilor. Genele au fost introduse şi expresate în piele, splină, ficat, muşchi şi intestine. Fiecare ţesut a manifestat o eficienţă diferită a transferului genic. Expresia genelor în toate ţesuturilor a fost tranzitorie (de exemplu, în piele 14 zile, în ficat 23 de zile), probabil datorită pierderii integrării stabile a genei. Un domeniu posibil de aplicativitate a tehnicii "genes gun" este vaccinarea. S-a constatat un răspuns imun specific la şoareci, după bombardarea pielii cu particule de aur cu genele codificatoare ale hormonului de creştere uman.

1.1.1.7. Metoda "cocktail" de transfer al genelor

Cercetările au arătat înalta eficienţă a transferului genic în celulele hematopoetice, a unui unui fragment de fibronectină umană recombinantă

Scanned with OKEN Scanner

(CH296), infectat cu un vector retroviral (*RetroNectin*™). Fibronectina este o componentă a matrixului extracelular. Fibronectina este o glicoproteină cu o masă moleculară de circa 460 000. CH296 este o proteină recombinantă cu o masă moleculară de circa 63000 care constă din 574 aminoacizi. *RetroNectin*™ este o polipeptidă care constă dintr-o peptidă legată specific la o celulă a măduvei hematopoetice şi o peptidă legată specific la un retrovirus. Fragmentul recombinant de fibronectină umană este capabil de a lega vectorul retroviral la celulele ţintă şi să le co-localizeze pe acea moleculă. Eficienţa transferului genic constă tocmai din circumstanţele co-localizării.

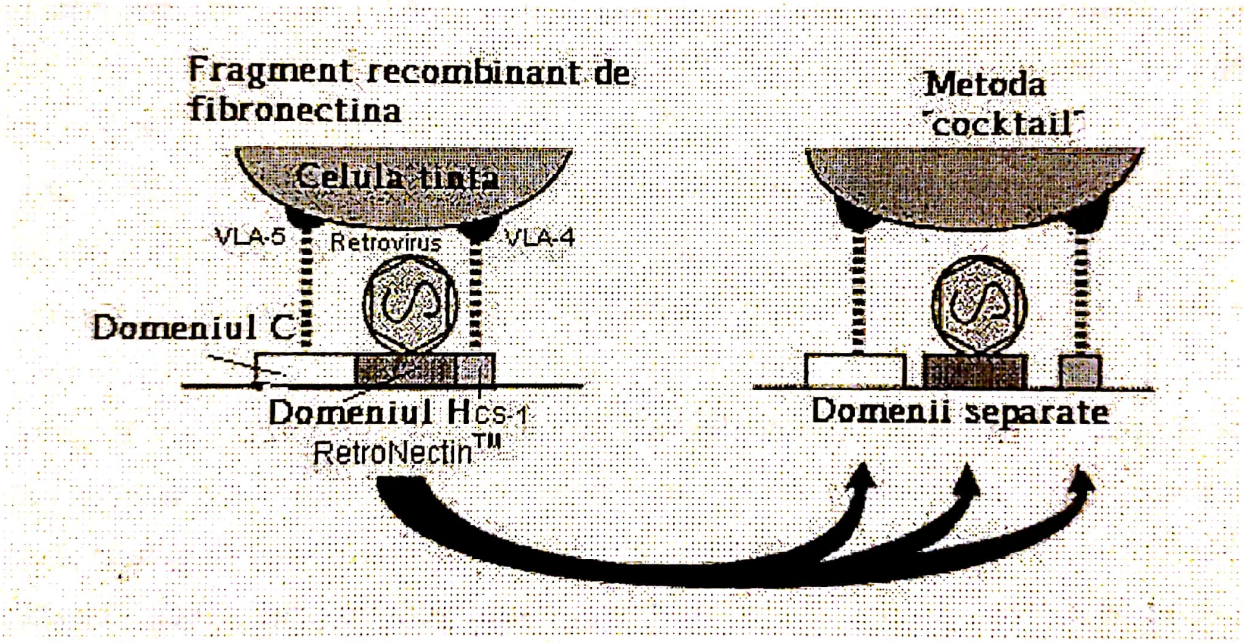


Fig. 3. Metoda "cocktail" de livrare a genelor.

Laminina este o glicoproteină mare a matrixului extracelular o moleculă adezivă celulară ca şi fibronectina. În timpul unor studii recente, s-a constatat că transferul genelor se realizează foarte eficient în linia celulară limfocitară, atunci când "cocktailul" conţine vectorul retroviral din *RetroNectin*™ şi carbohidraţii de laminină (figura 3). Transferul genei este de două ori mai eficient decât transferul retroviral.

Scanned with OKEN Scanner

Metoda "cocktail" (6) transfer a genelor oferă posibilitatea unei terapii genice mai simple, prin înlocuirea substratului de legare la celulele-țintă. Aceste observații sugerează că retrovirusurile pot fi introduse selectiv în celulele-țintă, folosind metoda "cocktail". Totodată, se preconizează introducerea *in vivo* a genei în celule, organe sau țesuturi specifice.

1.1.2. Metode virale de transfer ADN

Transducția este termenul care caracterizează transferul ADN cu ajutorul unor vectori virali, cu genom ADN (SV40, polyoma, papilloma virusurile, adenovirusurile, virusul uman adeno-asociat - AAV) sau genom ARN (retrovirusurile).

Un vector viral este "prelucrat" prin inginerie genetică de la forma "sălbatică" a virusului la o formă modificată a genomului său şi în structura virionilor. Vectorii virali pot fi împărțiți în diferite grupe: vectori retrovirali, vectori lentivirali, vectori adenovirali şi alte categorii de virusuri care sunt încă sub investigație. Principiul de acțiune al acestor vectori recombinanți este împachetarea macromoleculei de ADN într-o particulă virală, prin înlocuirea unei părți sau a întregului genom viral. Prin înlocuirea genelor virale, virusurile îşi pierd capacitatea patogenă. După manipularea genomului viral, virusul este folosit la transferul materialului genetic prin infecția virală într-o celulă-țintă.

1.1.2.1. Retrovirusurile recombinante

Retrovirusurile rămân cei mai "populari" vectori folosiți în protocoalele de terapie genică, obținându-se retrovirusuri recombinante.

Cu ajutorul reverstranscriptazei, genomul ARN este transformat în ADN şi inserat în genomul celular. Pentru evitarea riscurilor de infecție, în timpul utilizării vectorilor virali, genele terapeutice sunt introduse în locul genelor ce determină sinteza proteinei virale (de exemplu, genele *gag*, *pol* şi *env*

Scanned with OKEN Scanner

virale), în genomul viral (Fig. 4). El devine astfel provirus cu genom ADN, dar care nu se poate replica în celula gazdă. În celula-ţintă, gena utilă este integrată prin tehnologia convenţională de tăiere şi îmbinare a ADN.

Apoi vectorii virali dispar din celula transdusă, eliberând numai gena corectoare, normală. Retrovirusurile prezintă însă un dezavantaj, ele fiind incapabile de infectare a celulelor care nu se află în diviziune, metodă denumită circumstanţial "terapie genică *ex-vivo*".

Prin această procedură, celulele sunt transferate şi crescute *in vitro*. În acest timp, se adaugă virusul şi celulele se infectează, după care sunt transplantate înapoi în ţesutul-ţintă. Talia redusă a genomului retroviral nu permite includerea unei gene care are peste 8000 de nucleotide, cum este cea a factorului VIII uman de coagulare, care nu poate fi introdusă în genomul viral şi deci, nu poate fi folosit ca vector în cazul acestei maladii.

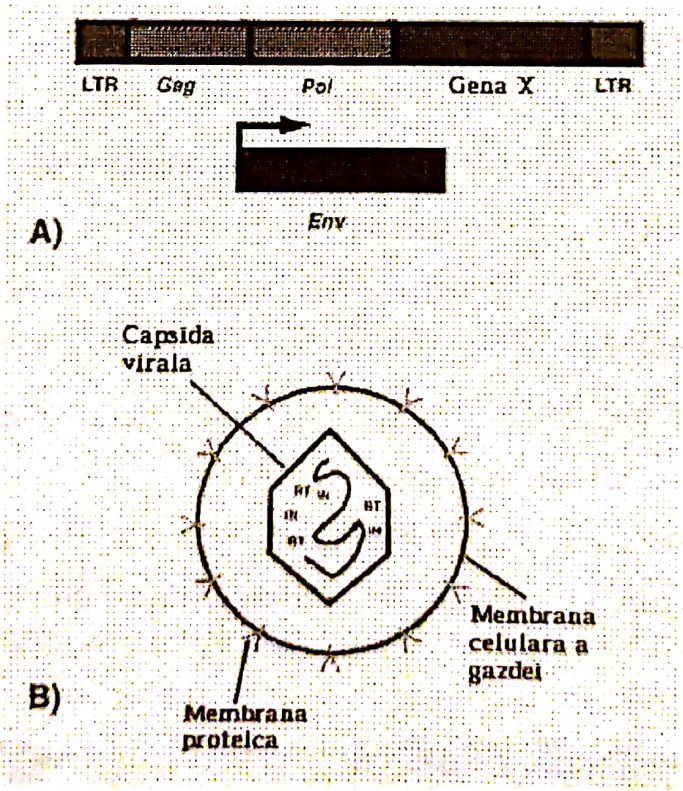


Fig. 4. Genomul vectorilor retrovirali (A) şi transferul genei corectoare în celula gazdă (B) (LTR-secvenţe repetitive în tandem; genele *gag*, *pol* şi *env*).

1.1.2.2. Lentivirusurile recombinante

Lentivirusurile sunt un tip special de retrovirusuri, cel mai important membru fiind virusul imunodeficienței umane (HIV).

Virusul HIV și alte lentivirusuri au un genom complex, care conține:

- Gene structurale - *env, gag* și *pol*;
- Gene reglatoare - *tat* și *rev*;
- Gene accesorii - *vpr, vif, vpu* și *nef.*

Aceste virusuri sunt capabile de a infecta celulele care nu se divid și de aceea, pot fi folosite pentru terapia genică *in vivo*. Rezultatele de până acum sunt promițătoare, sistemul oferind o transmitere exactă și expresia stabilă a transgenei (materialul genetic care este transferat).

Construirea unui vector necesită următoarele elemente (figura 5):

a. secvență-semnal (χ) de împachetare care asigură încapsidarea vectorului de ARN în virioni;
b. Elemente care sunt necesare în procesul reverstranscripției:
   - Un primer de legare la situs (PBS-*primer binding site*)- care leagă primerul de ARNt al reverstranscripției;
   - Secvențe terminale repetitive (R), care ghidează reverstranscriptaza la catena de ARN în timpul sintezei ADN;
   - O regiune bogată în purine (LTR), care acționează ca un situs de începere a sintezei catenei plus (+) de ADN.
c. Secvențe specifice lângă capetele regiunilor LTR care sunt necesare pentru integrarea vectorului proviral în cromosomul celulei gazdă.

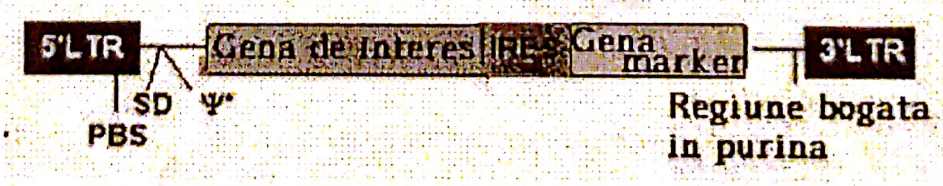


Fig. 5. Reprezentarea diagramatică a unui vector recombinant. Regiunile LTR de la capetele 3' și 5' sunt folosite pentru determinarea expresiei genei inserate și a genei-

marker. PBS-primerul la situsul de legare; SD-secvența de îmbinare; χ-semnalul de împachetare şi secvențele adiționale gag şi env de la capătul 3'; genele străine inserate pentru transferul în celula-țintă; IRES (internal ribosome entry site)-situsul de intrare în ribozomi; gena-marker inserată pentru selecția ulterioară.

1.1.2.3. Adenovirusurile recombinante

Adenovirusurile sunt virusuri cu genom ADN dublu catenar, care prezintă un mod similar de pătrundere în celulele-țintă ca şi retrovirusurile. Odată aflate în interiorul celulei, ei rup endosomul, conducând la împrăştierea ADN viral în citosol. O celulă infectată produce un mare număr de particule virale, conducând la liza ei şi la difuzia ulterioară a virusurilor în circulația sanguină.

Genomul adenoviral constă din patru secvențe de gene:

a. E1 - implicată în prepararea celulei gazdă pentru producerea de particule virale, permițând acumularea citoplasmatică a moleculelor de ARNm virale. Este implicată şi în protecția secvențelor de ADN virale de acțiunea nucleazelor şi determină represia expresiei genice în celulă;
b. E2 - codifică proteinele necesare replicării ADN viral;
c. E3 - codifică proteinele care camuflează recunoaşterea celulei infectate de către sistemul imunitar al organismului-gazdă;
d. E4 - reglează tranziția dintre procesele timpurii şi cele tardive ale ciclui de viață viral (5).

Adenovirusurile pot infecta atât celulele în diviziune, cât şi cele care nu se divid. O diferență majoră față de retrovirusuri este aceea că materialul genetic transmis de adenovirusuri, nu se integrează în genomul gazdei. Aceasta rezolvă problema integrării lui randomice (fapt crucial în reglarea genei) în regiunea codificatoare a genelor celulelor-țintă, folosite ca sisteme ale vectorilor retrovirali (8). Aceasta este una din motivațiile pentru care materialul genetic inserat, poate conduce la activarea oncogenelor sau

Scanned with OKEN Scanner

inactivarea genelor supresoare tumorale care, în ultimă instanță, duc la cancer.

Dezavantajul vectorilor adenovirali este acela că gazda este producătoare de răspuns imun. Aceasta omoară celulele infectate şi duce la producerea de anticorpi, prevenind astfel infectarea ulterioară cu acelaşi virus. Cu toate acestea însă, acest sistem este util în situația în care se cere un tratament de scurtă durată, de exemplu, pentru lupta împotriva celulelor canceroase.

1.1.2.4. Vectorii virali adeno-asociați

Virusurile adeno-asociate (AAV) au genom alcătuit din ADN monocatenar liniar, care este neautonom, adică necesită co-infecția cu un alt virus pentru a fi activ. Datorită naturii sale reduse, numai o mică secvență de ADN poate fi transfectată în celulele-țintă.

Virusul constă din două gene:

- Gena *rep* - implicată în sinteza unei proteine şi în replicare şi integrare;
- Gena *cap* - determină sinteza a trei proteine structurale virale.

Comparativ cu vectorii retrovirali, vectorii adeno-asociați sunt mai puțin eficienți în integrarea în genomul lor a ADN străin.

Datorită structurii lor simple, reacția imunitară la infecția sa este mai scăzută față de cea a vectorilor adenovirali.

1.1.2.5. Virusul herpetic recombinant

Virusurile herpetice (HSV-*Herpes siplex viruses*) sunt virusuri cu genom ADN dublu catenar, cu o secvență a bazelor de 150 kb (kilobaze). Tipul sălbatic a genomului herpetic conține trei grupuri de unități transcripționale:

- Unitatea "*imediată*", care are loc înaintea replicării ADN;
- Unitatea "*timpurie*", care acționează tot înaintea replicației ADN;
- Unitatea "*tardivă*", care îşi desfăşoară activitatea după replicația ADN.

Scanned with OKEN Scanner

Producerea de HSV recombinante necesită împachetarea liniei celulare şi un virus *helper*. Virusul helper este un tip sălbatic de HSV care conţine o deleţie într-o regiune "imediată" a genei (IE3). Linia celulară împachetată expresează gena IE3. Pentru producerea unui HSV recombinant, ADN-ul său este transfectat într-o linie celulară împachetată, care este ulterior infectată cu un virus helper. Stocul viral produs de aceste celule este o mixtură dintre un virus helper şi un virus recombinant.

HSV recombinante sunt folosite pentru introducerea şi expresia genelor în celulele care nu se divid, cum sunt cele neurale. Ca şi adenovirusurile, vectorii HSV nu sunt integraţi eficient în genomul gazdei .

1.1.2.6. Cromosomul episomal artificial uman

Recent, s-a construit un cromosom episomal artificial circular (HAECs-*human artificial episomal chromosomes*). Strategia de transmitere este bazată pe prezenţa originii de replicaţiei a virusului herpetic uman-virusul Epstein-Barr (EBV). Virusul Epstein-Barr (EBV) provoacă herpesul uman şi este asociat cu două tipuri de cancere umane: limfomul Burkitt şi carcinomul naso-faringial.

Genomul este ADN dublu catenar linear, cu multiple regiuni repetitive la capetele sale. Mai conţine un episom circular care se multiplică până la 100 de copii în celulele infectate. Pe baza lui s-a construit un vector plasmidial având ca marker, originea replicaţiei de la EBV (oriP) şi un fragment din genomul EBV, care codifică o proteină de replicaţie - EBNA-1. Plasmidul se replică autonom în diferite tipuri de celule umane.

Replicaţia episomală latentă a genomului circular de EBV, de 172kb în celulele umane, necesită numai două componente virale: regiunea oriP de replicare, de 1,5kb şi regiunea ORF de 1,9kb pentru oriP trans-activator EBNA-1. ADN de peste 850kb este clonat într-un plasmid circular bazat pe oriP va persista stabil în celulele umane manifestând EBNA-1 ca HAECs.

Scanned with OKEN Scanner

Astfel de cromosomi episomali artificiali umani sunt menținuți fără selecție în culturile de celule umane care cresc activ, au o durată de viață de aproximativ 3 luni, indicând că sistemul EBNA-1/oriP permite segregarea excelentă a episomilor nou replicați. Numărul de copii per celulă este de numai 2-4, el fiind instabil în condiții neselective, pierderea fiind de cca 5% per generație celulară.

Utilitatea potențială a acestei tehnologii urmăreşte creşterea dezvoltării unui sistem care să permită obținerea unor vectori eficienți în transportarea de gene terapeutice mari, de la bacterie în celulele umane, prin ingineria vectorilor hibrizi.

2. Hemofilia – maladie genetică X-linkată

2.1.Caracteristicile genetice ale hemofiliilor umane

Anomaliile genetice constituie de multe ori etiologia multor infirmități umane. Unele maladii sunt prezente încă de la naştere, altele apar mai târziu în decursul vieții. Aceste maladii sunt provocate de o singură genă (autosomal recesive, autosomal dominante, X-linkate recesive sau dominante), sau de cromosomi (anomalii numerice sau structurale), fiind multifactoriale sau mitocondriale.

Hemofilia este o maladie recesivă X-linkată, fiind caracterizată prin incapacitatea coagulării sanguine. Boala are transmitere familială şi starea patologică este provocată de absența sau modificarea factorului de coagulare VIII (pentru hemofilia A) şi IX (pentru hemofilia B). Când un vas de sânge este lezat, proteinele plasmatice (sau factori de coagulare) intervin în blocarea rănii.

Orice anomalie calitativă sau cantitativă a unuia din aceşti factori determină apariția hemofiliei. Nivelul normal al acestor factori este de 0,1 mg/l de plasmă pentru factorul VIII şi 5 mg/l pentru factorul IX. Variațiile cantitative ale acestora determină hemofilia majoră sau cea moderată.

Scanned with OKEN Scanner

2.1.1. Hemofilia A

Hemofilia A este cea mai frecventă, se mai numeşte şi hemofilia clasică, având o incidenţă de 1/10 000 de bărbaţi. Aproape toţi pacienţii sunt de sex masculin. Gravitatea şi frecvenţa deficienţei factorului VIII este corelată invers cu nivelele factorului VIII.

Configuraţia genetică a genei factorului VIII uman este de 186 000 pb-perechi de baze (una dintre cele mai mari gene cunoscute, conţinând cca 0,1% din ADN-ul cromosomului X), 26 exoni (secvenţe informaţionale) şi 25 introni (secvenţe noninformaţionale), fiind localizată în partea terminală a braţului lung al cromosomului X, la cea mai distală bandă Xq28.

Gena factorului VIII a fost prima gena clonată în anul 1984. Clonarea a fost efectuată de probele de biblioteci genomice ale bacteriofagului lambda cu probe de oligonucleotide sintetizate să corespundă secvenţelor de peptide triptice provenite din factorul VIII uman sau de la porcine (7).

Factorul VIII este o proteină lungă, alcătuită din 2351 aminoacizi, cu o greutate moleculară de 330 000 de daltori, fiind sintetizat de hepatocite şi secretat în plasmă sub forma a două lanţuri polipeptidice.

2.1.2. Hemofilia B

Hemofilia B (sau maladia *Christmas*) prezintă o frecvenţă de 1/30000 de bărbaţi. Gena care determină sinteza factorului IX este plasată tot în partea terminală a braţului lung al heterocromosomului X. Factorul IX este secretat de către hepatocite, sub forma unei proteine de 5 ori mai mici decât factorul VIII.

2.2. Patologia moleculară a hemofiliei

Până recent, hemofilia A era o maladie genetică letală şi afecta indivizii de sex masculin (7). Un mare număr de mutaţii pot produce apariţia bolii şi peste 50% din pacienţi prezintă o mutaţie diferită. O impresionantă bază de

Scanned with OKEN Scanner

date privind mutațiile punctiforme (substituții, deleții, inserții sau rearanjamente în structura genei factorului VIII au fost semnalate în ultimii ani.

În urma cercetărilor efectuate în diferite laboratoare din străinătate, la 225 de hemofilici s-au identificat ca alterări în structura ADN, peste 80 de mutații punctiforme (deleții, inversii, substituții etc.) în gena respectivă. În Statele Unite ale Americii, la 806 de pacienți care sufereau de hemofilie B, s-au identificat circa 750 de mutații provenite în urma metilării unor nucleotide sau datorate delețiilor şi translocațiilor genei respective.

Aceste mutații determină fenotipizarea unor factori de coagulare mai scurți, cu altă secvență a aminoacizilor. Complicațiile care însoțesc hemofilia sunt: sângerarea spontană, bolile articulațiilor, astritele cronice, unele diformități etc. Indivizii afectați suferă hemoragii ale încheieturilor şi mușchilor, contuzii uşoare şi sângerări prelungite ale rănilor. Pentru că funcția trombocitară nu este afectată, pierderea de sânge în urma tăieturilor mici sau a zgârieturilor nu este excesivă. La pacienții cu hemofilie A, 50-70% prezintă boala în formă severă cu o activitate a factorului VIII de până la 1%, în timp ce circa 30% manifestă boala într-o formă moderată cu nivelele ale factorului VIII de până la 20%.

2.3. Diagnoza prenatală a hemofiliei

Din 1993, sute de familii au recurs la diagnoza prenatală pentru analiza ADN-ului genei factorului VIII, cu rezultate în general satisfăcătoare şi cu minimum de erori.

Marea incidență a mutațiilor arată că diagnoza ADN nu era disponibilă multor familii al căror purtător era greu de diagnosticat. Prin metodele moderne de diagnosticare s-a constatat că membrii afectați prezintă în mod frecvent, inversii nucleotidice în gena factorului VIII. Totuşi, datorită enormei varietăți a mutațiilor care produc maladia, la circa 60% din cazuri, diagnoza prin analiza ADN este realizată prin detectare indirectă, folosind

Scanned with OKEN Scanner

polimorfisme legate de ADN.

Folosind noua tehnologie a ADN este posibilă diagnoza prenatală sau testarea presimptomatică a multor maladii genetice. Pentru diagnoza prenatală, țesutul fetal este obținut prin cultivarea învelișului corionic la 9 până la 11 săptămâni de gestație sau amniocenteza la 18 săptămâni. Diagnoza ADN poate acum fi furnizată folosind o singură celulă obținută din preimplantarea embrionilor sau din rarele celule izolate din sângele periferic. Ultima metodă este mai sigură și mai acceptabilă de către părinți. Testarea presimptomatică a maladiilor netratabile ridică noi probleme sociale și etice care au nevoie de rezolvare.

Scopul diagnozei genetice este indentificarea mutațiilor producătoare de maladii în orice familie. Analizele pot fi realizate prin studiile polimorfismului lungimii fragmentelor de restricție, *Southern blotting* și secvențierea ADN. Studiile citogenetice implică alcătuirea cariotipului și utilizarea tehnicii hibridizării *in situ* (FISH - fluorescence *in situ* hibridization).

2.3.1. Tehnici de diagnostic molecular

2.3.1.1. Tehnica *Southern blotting*

Pentru analiza structurii genei și a rearanjamentelor genice care conduc la apariția maladiilor genetice, se folosește tehnica *Southern blotting*. Aceasta constă în scindarea moleculei de ADN cu ajutorul enzimelor de restricție, obținerea fragmentelor de restricție și separarea lor după mărime, utilizând electroforeza în gel de agaroză.

Fragmentele incluse în gel sunt denaturate chimic (pentru a obține fragmente de ADN monocatenar) și imobilizate pe o membrană de nylon sau pe un filtru de nitroceluloză. Se obține astfel o replică a modelului de benzi din gelul de garoză. Fragmentele de ADN imobilizate pe filtrul de nitroceluloză, pot fi hibridizate *in situ* cu o probă de ADN radioactivă

Scanned with OKEN Scanner

specifică, astfel că numai fragmentele complementare vor fi hibridizate, realizându-se o bandă marcată radioactiv ce poate fi dientificată prin autoradiografie.

Autoradiografierea filtrului de nitroceluloză evidențiază numărul și dimensiunea fragmentelor de ADN complementare probei (2).

2.3.1.2. Amplificarea ADN prin metoda polimerizării în lanț pentru detectarea mutațiilor

Reacția polimerizării în lanț (PCR- *polymerase chain reaction*) a avut un puternic impact asupra tehnologiei ADN, care permite genei sau unui fragment de ADN de interes să fie amplificată de câteva mii de ori.

Tehnica este în întregime automatizată și se bazează pe principiul autoreplicării semiconservative, folosind enzima ADN-polimeraza în vederea copierii unui fragment specific de ADN.

Procedura, extrem de simplă și economică, începe prin amestecul în interiorul unui tub, a următoarelor componente: eșantionul de ADN, ADN-polimeraza *taq* termostabilă, extrasă de la bacteria termofilă *Thermus aquaticus*, cele patru deoxiribonucleotide trifosfat (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) și două oligonucleotide sintetice folosite ca primeri sau amorse.

În continuare, un preparat de ADN este secționat de endonucleazele de restricție, apoi este denaturat și secvențele monocatenare rezultate sunt legate de cele două secvențe primer, complementare cu capetele opuse ale fragmentului de ADN-țintă. ADN-polimeraza *taq* este folosită pentru sinteza unei singure catene de la capătul 3'-OH al fiecărui primer.

Ciclul se repetă prin denaturarea preparatului dublu catenar obținut, numărul copiilor crescând exponențial.

Tehnica prezintă numeroase implicații practice în genetica moleculară și în medicină. Ea contribuie printre altele, la detectarea rapidă a mutațiilor și determină amplificarea ADN pentru tehnica *Southern blotting*.

Scanned with OKEN Scanner

2.3.1.3. Tehnica hibridizării fluorescente *in situ*

Tehnica hibridizării fluorescente *in situ* (FISH) a fost elaborată relativ recent (1996), de către cercetătorii americani Y.Nin şi J.Flint. Această tehnică utilizează sonde fluorescente de ADN, care se leagă pe bază de complementaritate, de un situs specifc al cromosomului. În acest fel, probele pot fi vizualizate direct pe preparatele celulare sau cromosomiale. Metoda FISH este relativ simplă şi nu prea costisitoare, iar timpul de analiză şi procesare este scurt.

Tehnicile FISH servesc la următoarele:

- Identificarea cromosomilor şi a anumitor regiuni cromosomiale;
- Identificarea genelor normale şi mutante din genom;
- Sunt utilizate la elaborarea hărţilor genetice;
- Determinarea distribuţiei spaţiale în celule şi ţesuturi a diferitelor molecule de ARN;
- Evidenţierea prezenţei în celule a genomurilor virale;
- Detectarea deleţiilor cromosomiale submicroscopice;
- Localizarea genomică a genelor implicate în patogeneza cancerului;
- Determinarea compoziţiei clonale a tumorilor;
- Detectarea anomaliilor cromosomiale numerice şi structurale în celulele interfazice.

2.4. Ingineria genetică a hemofiliilor

Tratamentul actual al hemofiilor A şi B se realizează prin injectarea intravenoasă a concentratelor de factori de coagulare VIII şi respectiv, IX extraşi din plasma sanguină umană. Tratamentul se face de două ori pe săptămână, iar în cazuri mai puţin grave, o dată pe lună. Absenţa tratamentului este în unele cazuri, fatală. Acest tratament însă, prezintă riscul infecţiei prin contaminare cu alte virusuri patogene în timpul injectării.

Scanned with OKEN Scanner

Terapia genică a hemofiliilor umane include: terapia *ex vivo* şi *in vivo*, terapia genică ne-autologă şi ingineria celulelor capabile de secreţie a factorilor de coagulare, precum şi reimplantul "versiunii corecte" la organismul-donator.

Primul test clinic de terapie genică umană s-a realizat în anul 1990, în SUA, la doi copii de 4 şi respectiv, de 9 ani, care prezentau o imunodeficienţă manifestată prin incapacitatea de a sintetiza adenozin dezaminaza (ADA) umană şi supravieţuiau numai în condiţii sterile. În scopul terapiei genice, la cei doi copii s-au izolat limfocitele T, în care s-a introdus o genă normală ADA cu ajutorul unui vector retroviral, după care celulele au fost reintzroduse pacienţilor lunar sau la două luni. După un an, bolnavii prezentau ameliorări clinice semnificative şi răspuns imunologic aproape normal (2).

În terapia genică a multor boli de natură genetică sau dobândită, hemofilia serveşte ca prototip în terapia genieă a bolilor ereditare. Scopul terapiei genice a hemofiliei este introducerea şi expresia stabilă a genei ce codifică factorul sanguin funcţional al coagulării VIII sau IX.

2.4.1. Factorul VIII recombinant

Clonarea genelor factorilor VIII şi IX a început încă de la începutul anilor '80, permiţând folosirea de factori de coagulare recombinanţi, care au redus în mare măsură riscul contractării unor maladii ca, hepatita A, B sau C şi a virusului HIV. În anii 1992 şi 1997 s-a aprobat folosirea factorului VIII şi a factorului IX de coagulare recombinanţi în tratamentul hemofiliilor umane.

Factorul VIII recombinant (rVIII) este factorul antihemolitic A, obţinut prin folosirea tehnologiei ADN recombinant. Cu ajutorul acestei tehnologii, proteina pură este sintetizată în laborator în loc de a fi extrasă din sânge. Factorul VIII recombinant este astfel, independent de virusurile care pot fi prezente în preparatele factorului hemolitic derivat din plasmă. Ei pot fi

Scanned with OKEN Scanner

independenţi de asemenea de alte proteine plasmatice responsabile de efectele imunosupresoare şi de reacţiile alergice.

Factorul VIII recombinant se prezintă sub formă liofilizată şi are capacitate coagulantă similară derivaţilor plasmatici de mare puritate.

2.4.2. Modele de animale pentru testarea preclinică a terapiei genice a hemofiliilor

Terapia genică umană a hemofiliei implică dezvoltarea pe plan internaţional, a unor modele diferite de terapie genică efectuate pe animale de laborator. Ca celule-ţintă pentru transferul de gene, se folosesc fibroblaste, keratocite, hepatocite etc.

Transferul genic implică transfecţia la o celulă-ţintă a unui vector retroviral care conţine un promotor, ADNc (ADN complementar) pentru proteina lipsă şi un factor de selectivitate. Celulele care conţin ADNc respective, sunt crescute în cultură şi apoi transplantate în gazda bolnavă. Această abordare a fost aprobată în cazurile clinice de deficienţe ale adenozin dezaminazei.

În domeniul hemofiliei, cercetările clinice au progresat mai rapid pentru hemofilia B decât pentru hemofilia A, pentru că ADNc al factorului IX şi proteina sunt semnificativ mai mici decât acelea de la factorul VIII. În plus, datorită distribuţiei sale extravasculare, factorul IX nu cere un nivel adecvat al secreţiei directe intravasculare în circulaţie.

Unele tipuri de celule de mamifere (fibroblaste, hepatocite şi celule endoteliale) au fost transfectate cu ajutorul unor vectori retrovirali, care conţineau ADNc al factorului IX uman, determinând expresia *in vitro* a nivelelor semnificative ale factorului IX uman (peste 4,6 mg/106 celule/24 h pentru fibroblastele de şobolan). Odată ce fibroblastele cultivate au fost transplantate la rodente, factorul IX uman expresat s-a detectat în plasma rodentelor, iar nivele circulante au fost mult mai mici decât cele prevăzute *in vitro* şi s-au menţinut pentru numai o lună.

Scanned with OKEN Scanner

Hemofilia a fost semnalată la diferite specii de mamifere. La oi şi cai s-au identificat hemofilii spontane, însă cea mai mare însemnătate s-a acordat animalelor destinate testării terapiilor hemostatice, centrate pe formele canine ale hemofiliei spontane şi pe formele de murine cu hemofilie generată prin tratarea cu genele factorilor VIII şi IX.

2.4.2.1. Transferul genei *in vivo*

Un model de terapie genică a fost realizat la câinii bolnavi de hemofilie B, prin transferul *in vivo* a genei hepatice, producătoare de factor IX, prin infuzia directă a vectorilor retrovirali recombinanţi în vascularizaţia portală. Concentraţia plasmatică a factorului IX la câinii trataţi, a crescut de la 0 la 300%, ceea ce a însemnat o ameliorare completă a bolii, demonstrată prin coagularea normală a sângelui. Nivelele terapeutice ale factorului IX a persistat timp de 18 luni de la tratament (10).

Tot *in vivo* s-au folosit ca vectori, adenovirusuri pentru transferul a genei factorului IX. Nivelele terapeutice (5 μg/ml) ale factorului IX recombinant au fost secretate în plasma sanguină de la şoarece. Însă, când acelaşi adenovirus recombinant a fost introdus într-un muşchi al unui şoarece adult normal, s-au observat nivele ridicate ale expresiei pentru o săptămână. Pierderea expresiei a fost datorată limfocitelor T citotoxice (CTL) la produsele transgenice şi adenovirale. În plus, s-a desfăşurat un răspuns umoral extins la proteinele structurale virale, odată cu injecţia repetată a vectorului adenoviral recombinant.

Un alt exemplu de transfer al genelor în hepatocite *in vivo* cu ajutorul vectorilor adenovirali (5, 8), a arătat că gradul transducţiei hepatice a fost direct proporţional cu doza de adenovirus infuzat. Factorul de coagulare a persistat timp de 7 luni, iar răspunsul imun împotriva factorului de coagulare a fost fie absent, fie tranzitoriu. Totuşi, nenumăratele dereglări metabolice pot fi îmbunătăţite, chiar şi cu expresia genică *in vivo* trecătoare. Aceasta face

Scanned with OKEN Scanner

sistemul vectorial adenovirus recombinant, un model atractiv de transfer genic terapeutic la nivel hepatic, în special prin dezvoltarea ulterioară a vectorului (11).

Recent, s-au folosit în terapia genică mioblaste primare - celule uşor de manipulat *in vivo* şi *in vitro*. Observaţiile au arătat că în experimentele efectuate pe şoareci, expresia factorului IX poate fi detectată timp de peste 2 ani, fără efecte adverse aparente la şoareci. Însă, efectuarea de experimente similare la câinii hemofilici folosind factorul IX canin şi mioblaste autologe, s-a observat o expresie foarte scăzută sau inexistentă a genei transferate, aceasta deoarece probabil mioblastele fuzionează foarte ineficient cu miotubulii.

O colonie de câini de la Universitatea Regală din Canada, alcătuită din 42 de animale, prezintă 22 de indivizi care manifestă un fenotip hemofilic A. Animalele afectate manifestă un fenotip grav, cu nivele scăzute ale factorului VIII plasmatic şi o apariţie periodică a episoadelor de sângerare spontană musculo-scheletică. Tratamentul de rutină a episoadelor de sângerare a fost infuzia de crioprecipitat canin, obţinut de la donatori canini normali. Această colonie a fost utilizată în probele preclinice ale factorului VIII uman recombinant, înregistrându-se nivele ale factorului VIII echivalente celor ale proteinei derivate din plasmă. Totuşi, s-a înregistrat prezenţa unui important răspuns imun la proteina umană, urmând pierderea factorului VIII transgenic, transmis de un adenovirus recombinant.

2.4.2.2. Transferul genei *ex vivo*

Pe de altă parte, s-a reuşit recent, obţinerea factorilor de coagulare prin cultivarea *in vitro* a celulelor de mamifere. În acest scop, s-au utilizat retrovirusuri pentru introducerea ADN-ului codificator al factorului de coagulare IX uman, într-o cultură de mioblaste primare murinice. Celulele infestate au produs factorul IX în mediul de cultură, fiind detectat înainte şi

Scanned with OKEN Scanner

după diferențierea celulelor în miotubuli. Apoi, mioblastele modificate genetic au fost grefate în mușchii striați ai șoarecilor, după care s-au detectat nivele stabile ale factorului IX de coagulare uman circulant, pe o perioadă de peste 2 luni de la grefare. În acest fel, mioblastele primare modificate genetic, sau liniile stabile de mioblaste grefate în mușchii scheletici, pot fi folosite în terapia genică a unor patologii genetice foarte variate (inclusiv cele musculare intrinseci sau defectele proteinelor circulante asemănătoare celulor din hemofilie).

În plus, în vederea corecției genei mutante care produce hemofilia A, gena factorului VIII a fost izolată și transferată în celule de mamifer *in vitro* (în special, rinichi de hamster). După aceea, factorul VIII a fost purificat, concentrat și administrat pacienților hemofilici. Cercetările clinice efectuate pe bărbații hemofilici au dat rezultate pozitive, similare cu cele obținute prin tratamentul cu factorul VIII extras din sângele uman. Avantajul constă în faptul că factorul VIII astfel produs în cantități nelimitate, este mai economicos și în afara pericolului infecțiilor virale.

2.4.3. Terapia genică și relația doză - răspuns

Relația dintre cantitatea transgenei administrate gazdei și răspunsul terapeutic necesită adesea o atenție sporită în studiile preclinice de terapie genică. Multe maladii aflate sub terapia genică nu au modele pe animale. Maladiile genetice umane pot fi dificil de reprodus pe animale, deși folosirea recentă a animalelor transgenice au fost de ajutor. Modelele pe animale nu pot include parametrii fiziologici care pot afecta expresia transgenei și răspunsul terapeutic. Aceste modele adesea nu iau în considerație parametrii cavascularizația tumorală, heterogenitatea extracelulară și celulară etc.

Totuși există numeroase exemple care probează faptul că modelele pe animale sunt deosebit de importante în înțelegerea și aplicarea terapiei genice la om.

Scanned with OKEN Scanner

3. Perspectivele dezvotării tehnologiei ADN recombinant

3.1. Terapia genică-realizări şi promisiuni

Pentru efectuarea terapiei genice sunt necesare:

a. identificarea secvenţei de ADN a cărei expresie poate înlesni terapia;

b. identificarea tipurilor de celule în care se poate realiza terapia genică;

c. transportul ADN în nucleu, în cantităţi şi număr de celule suficient de mare.

Cu toate acestea, numeroasele exemple privind terapia genică demonstrează că sunt încă necesare eforturi multiple pentru ca ea să devină o metodă medicală larg răspândită. Scenariul terapiei maladiilor moştenite, unde o genă defectivă a fost suplimentată cu o copie funcţională, a fost extins asupra unui mare număr de maladii. Scopul este ca o singură doză să fie esenţială pentru terapia genică, care să acopere toate cerinţele fiziologice.

Deşi în această etapă, terapia genică a hemofiliilor este în stadiu preclinic tratamentul viitorului pentru pacienţii cu hemofilie poate include folosirea terapiei genice sau a factorilor de coagulare recombinanţi, ambele strategii fiind complet în afara riscului infecţiei în timpul tratamentului.

În toată lumea sunt începute peste 200 cazuri clinice care utilizează tehnologia ADN-ului recombinant (Tabel 2). În prezent, peste 250 de pacienţi sunt deja trataţi în SUA prin această inovatoare strategie terapeutică. Rezultatele promiţătoare obţinute la animalele de experienţă, oferă posibilitatea ca terapia genică să devină curând o practică standard. Este încă prea devreme de spus dacă un tratament care a decurs cu succes la şoareci, ar putea fi transformat într-un tratament efectiv la oamenii afectaţi. Însă dacă transferul genei nu a devenit încă o realitate în tratamentul hemofiilor umane, el poate o îmbunătăţire semnificativă şi pozitivă a calităţii vieţii celor afectaţi.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 2

Tipurile de vectori folosite în terapia genică şi dezavantajele lor

Vectori	**Celule-ţintă**	**Limitări ale terapiei genice**
Retrovirusuri	Muşchi striaţi Endoteliul vascular	-Integrarea retrovirală apare cu o frecvenţă scăzută, datorită proliferării scăzute a celulelor. -Sunt incapabili de integrare a celulelor nereplicative -Pot fi inactivaţi rapid *in vitro*
Adenovirusuri	Mare varietate de celule, inclusiv cardiomiocitele	-Infectează celulele nonreplicative -Pot fi produse şi purificate în cantităţi mari -Sunt stabili, dar expresia lor este tranzitorie -Răspuns inflamator după injecţiile adenovirale
Virusuri adeno-asociaţi (=AAV)	Mare varietate de celule	-Foarte puţin imunogenic şi mai toxic decât adenovirusurile -Expresie genică pe termen lung -Dificil de produs în cantităţi mari
Lentivirusuri (ex.HIV)	Mare varietate de celule	-Pot infecta celulele în diviziune şi cele ce nu se divid -Expresie susţinută peste 6 luni -Fără răspuns imunologic
Herpes simplex	Neuroni şi celule ale măduvei osoase	-Poate transporta o mare cantitate de ADN -Menţinuţi ca o formă nonreplicativă extracromosomială -Imunogenic -Potenţial toxic - poate cauza encefalita
Vectori nonvirali (ex.Liposomi)	Mare varietate de celule	-Expresie tranzitorie şi efienţă scăzută -Legături nespecifice În ADN -Nu se pot integra în genomul gazdei
Plasmide	Celule diferite	-Expresie genică tranzitorie -Dificil de transmis spre celule-ţintă specifice

În ciuda progreselor semnificative făcute în cunoaşterea terapiei genice, încă există limitări practice şi conceptuale de aplicare a sa. "Tendonul lui Ahile" al terapiei genice este transmiterea genelor şi obţinerea expresiei

Scanned with OKEN Scanner

susținute a lor. Studiile actuale sunt concentrate asupra optimizării strategiilor transferului genic viral sau nonviral, menținerea nivelelor terapeutice ale expresiei genelor în celulele-țintă care să moduleze expresia genei conform cerințelor fiziologice. Eficacitatea evidentă a terapiei genice este însă copleşitoare. Pe viitor, vor fi învinse multe dintre problemele actuale ale terapiei genice, devenind astfel o modalitate esențială de tratament a maladiilor genetice.

3.2. Beneficiile utilizării factorilor de coagulare recombinanți în tratarea hemofiliilor

Motivele care au condus la introducerea factorilor de coagulare recombinanți în tratamentul hemofiliilor, au fost creşterea la începutul anilor '80, a cazurilor de SIDA şi de hepatită virală, disponibilitatea limitată pentru fracționare a sursei de plasmă şi dorința de obținere a moleculelor modificate.

Produşii recombinanți deja stabiliți sunt rFVIII, rIX şi FVII (rVIIa), fiind folosiți pentru controlul eficient al sângerărilor, având o trombogeni-citate moderată.

Unul din beneficiile produşilor recombinanți este acela că ei pot fi independenți de agenții patogeni tipici ai sângelui şi nu pot fi introduşi cu ajutorul excipienților derivați din plasmă. Deşi factorii recombinanți posedă în mod esențial aceeaşi compoziție în aminoacizi, ei pot însă avea o structură proteică ce diferă de produsul natural. Aceasta poate fi cauza diferențelor în comportamentul farmaceutic, comparativ cu produşii plasmatici.

O importantă semnificație a produşilor plasmatici, folosiți în tratamentul hemofiliilor, este dezvoltarea inhibitorilor, de exemplu, neutralizarea anticorpilor împotriva factorului înlocuit. S-a constatat că următorii factori influențează manifestarea inhibitorilor:

- gravitatea hemofiliei;
- vârsta (de obicei, sub 10 ani);

Scanned with OKEN Scanner

- defectul genei (incidența cea mai ridicată a inversiilor, mutațiilor nonsens, deleţiile mari);
- zilele de expunere (de obicei 9-16, la cele mai multe cazuri mai puțin de 50);
- tipul de produs (plasmă sau factor recombinant, modificarea etapelor de inactivare a virusului).

Cu toate că până în prezent nu au fost publicate studii care să demonstreze menținerea îndelungată a nivelurilor terapeutice ale factorilor de coagulare la animale, domeniul terapiei genice s-a maturizat şi previziunile, în ciuda lipsei creşterii succeselor clinice, sunt incitante şi pline de speranță. Studiile clinice joacă un rol cheie, deoarece nu este posibilă previziunea toleranței imunologice a factorului de coagulare, în orice testare de laborator sau model de animal.

3.3. Proiectul Genomul uman

Inițierea **Proiectului Genomul Uman** (HGP - *Human Genome Project*) a favorizat identificarea genelor; genele responsabile maladiilor au fost clonate, mutațiile au fost identificate şi au devenit acum disponibile diferite metode de mare acurateţe.

Inițiat în 1990 în SUA, de către Departmentul de Energie şi Institutul Național de Sănătate, HGP beneficiază de o finanțare considerabilă (3 miliarde $). Programul a fost estimat să mențină pe 15 ani, iar obiectivele principale ale acestui program sunt:

- identificarea celor aproximativ 100.000 de gene din ADN-ul uman;
- determinarea secvenței celor 3 miliarde de perechi de baze azotate ce alcătuiesc ADN-ul uman,cu o eroare estimată la 10.000 de baze;
- stocarea informației obținute intr-o bază de date;
- dezvoltarea metodelor şi tehnologiilor pentru studiul acestor date;

Scanned with OKEN Scanner

•rezolvarea problemelor etice, legale şi sociale care pot apărea în urma acestor studii.

S-a elaborat astfel, un plan pus în aplicare din 1991, care să fie estimat la circa un dolar pe nucleotidă.

Finalizarea cercetărilor, estimată acum pentru 2003, va coincide cu a 50-a aniversare a descoperirii structurii ADN-ului de către Watson si Crick. Se prevede ca până în 2009 tranzactiile având ca obiect produse şi tehnologii pe bază de ADN, vor ajunge la 45 de miliarde $ anual. De aici şi atenţia sporită acordată studiilor în domeniu.

Una dintre ideile de bază a HGP este începerea alcătuirii hărţilor cromosomiale pe care să fie localizate genele, prin identificarea unui marcator genetic la fiecare 2 milioane de baze (în medie). Marcatorul poate fi orice secvenţă scurtă de ADN, care poate fi recunoscută printr-o secvenţă asociată cunoscută. Din cauza modului în care sunt legate cele două spirale ale ADN-ului, fiecare secvenţă posedă un singur complement. Secvenţa poate fi recunoscută pe baza complementarităţii bazelor. Există deja bănci de gene care deţin complementele unor secvenţe cunoscute de ADN.

Primii doi ani au fost consacraţi stabilirii acestor marcatori-index.. Cercetările au avut utilitate imediată, ducând la crearea unei hărţi mai detaliate şi înlesnind munca de identificare a unei anumite gene.

Acest prim succes a determinat creşterea numărului de participanţi la HGP, implicându-se şi ţările europene (centrul Sanger din Marea Britanie, laboratoare din Franţa şi Germania) şi Japonia.

Odată cu atingerea acestui scop intermediar (o "ciornă" a proiectului), s-a stabilit o nouă direcţie de cercetare: identificarea variaţiilor individuale ale genomului uman. Chiar dacă 99,5% din secvenţele de ADN sunt identice la toată populatia umană, micile variaţii pot avea un impact major asupra răspunsului la diferitele boli, rezistenţa la bacterii, virusurii, toxine şi substanţe chimice, precum şi la tratamentele medicamentoase.

Scanned with OKEN Scanner

S-au dezvoltat metode pentru detectarea diferitelor tipuri de variații, în special cele de tip SNP (*single nucleotide polymorphism*), care apar cu o frecvență destul de mare - de 1/250 de baze. Cercetătorii speră că aceste studii să contribuie la identificarea corelată a genelor asociate cu maladii complexe, ca diabetul, cancerul, afecțiunile vasculare și unele boli mintale. Aceste corelări sunt greu de stabilit cu metodele tradiționale de "vânare" a genelor, deoarece o singură genă alterată își poate aduce doar o contribuție redusă la riscul de boală.

Hărțile cromozomiale au înlesnit localizarea genelor implicate în numeroase maladii genetice (distrofia miotonică, Alzheimer, unele cancere genetice etc.).

Primul plan pe cinci ani (1990-1995) a fost revizuit în 1993, datorită progreselor neașteptate. Un al doilea plan a stabilit obiectivele proiectului până în anul 1998. Al treilea și cel mai recent, a fost stabilit la 23 octombrie 1998 în urma unei conferințe internaționale.

Complexitatea extraordinară a Proiectului Genomul Uman (HGO) face necesară participarea cercetătorilor din domenii variate, ca: biologia, informatica, chimia, matematica, fizica, ingineria aplicată etc.

Una din noile metode de cercetare o constituie studiul comparat al genotipurilor.

Funcțiile genelor umane și a altor regiuni ale ADN sunt deseori puse în evidență prin studiul comparat al secvențelor corespunzătoare la alte specii. Pentru astfel de comparații, cercetătorii au obținut secvențierea completă a genomului speciilor: *Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae și Caenorhabditis elegans*. Sunt spre finalizare genotipurile *Drosophilei melanogaster* și a șoarecelui de laborator (*Mus musculus*). De asemenea, cercetările vor conduce la noi metode de analiză a proteinelor și explicarea mecanismului mutațiilor.

Noua medicina moleculară se va caracteriza nu atât prin tratarea simptomelor, cât prin identificarea cauzelor fundamentale ale bolii. Noi

Scanned with OKEN Scanner

medicamente şi înlocuirea genelor defecte prin terapie genică vor deschide alte perspective în tratamentul unor boli azi incurabile.

Bibliografie

1. F.H.E. Schagen, R.J. Rademaker, F.J. Fallaux, R.C. Hoeben, *Insertion vectors for gene therapy*. Gene Ther., 7: 271-272, 2000.
2. P.Raicu, Genetica generală, Humanitas, Bucureşti, 314-347, 1997.
3. G. Hortelano, N. Xu, A. Vandenberg, J.Solera, PL. Chang,.FA. Ofosu, *Persistent delivery of factor IX in mice: gene therapy for hemophilia using implantable microcapsules*, Hum.Gene Ther., 10: 8 1281-8, 1999.
4. TA. Whitehill, LA. Messina, JC. Stanley, *Genetic manipulation of endothelium adn vascular smooth muscle*, In: Implant.Biol., New Jersey, 18: 315-328, 1994.
5. F.H.E., Schagen, R.J., Rademaker, M.J.W.E., Rabelink, H.,Van Ormondt, F.J., Fallaux, A.J., Van der Eb, R.C. Hoeben, *Ammonium sulphate precipitation of recombinant adenovirus from culture medium: an easy method to increase the total virus yield*. Gene Ther. 7: 1570-1574.
6. S. Takara, *Laminin carbohydrates enhance the retroviral-mediated fibronectin-assisted gene transfer efficiency*, Biotechn. Res., Tokio, 5: 243-258, 2001.
7. S.S. Fakharzadeh, Y. Zhang, R. Sarkar, H. Haig Kazazian Jr., *Correction of the coagulation defect in hemophilia A mice through factor VIII expression in skin*. Blood, 95 (9): 2799 -- 2805, 2000.
8. S. Connelly, JL. Andrews, AM. Gallo-Penn, L. Tagliacca, RJ. Kaufman, M. Kaleko, *Evaluation of an adenoviral vector encoding full-length human factor VIII in hemophiliac mice*, Thromb. Haemost., 1999, 81: 2 234-9.
9. C., Balague, J., Zhou, Y., Dai, R., Alemany, SF., Josephs, G., Andreason, M., Hariharan, E., Sethi, E., Prokopenko, S., Han, Y., Lou, D., Hubert-Leslie, L., Ruiz, W.W. Zhang, *Sustained high-level expression of full-length human factor VIII and restoration of clotting activity in hemophilic mice using a minimal adenovirus vector*. Blood 95 (3): 820 -- 828, 2000.
10.RW. Herzog, EY. Yang, LB. Couto, JN. Hagstrom, D. Elwell, PA. Fields, M. Burton, DA. Bellinger, MS. Read, KM. Brinkhous, GM. Podsakoff, TC. Nichols, GJ. Kurtzman, KA. High, *Long-term correction of canine henophilia B by gene transfer of blood coagulation factor IX mediated by adeno-associated viral vector*, Nat.Med., 5: 1 56-63, 1999.
11. T. Vanden Driessche, V. Vanslembrouck., I. Goovaerts, H. Zwinnen, ML. Vanderhaeghen, D. Collen, MK. Chuah, *Long-term expression of human coagulation factor VIII and correction of hemophilia A after in vivo retroviral gene transfer in factor VIII-deficient mice*, Proc.Natl.Acad.Asci.USA, , 96: 18 10379-84, 1999.

Scanned with OKEN Scanner

ABSTRACTS

Scanned with OKEN Scanner

Disc Prosthesis

Ion POEATĂ, Alexandru CHIRIAC

The paper contains a brief presentation of the evolution of the concept of disc prosthesis as well as some data regarding the types of prosthesis and their current producers.

We present the main designs of the disc prosthesis: low friction sliding surfaces; string and plates systems; liquid chamber systems; disc made of rubber and other elastomers; hidrogel coated in a polyethylene texture.

We continue with a classification of the disc prostheses devised by taking into account the nature of the material they were made of (Metals and metal alloys; Polymers, elastomers and ceramic materials; Combination of metalic and non-metalic materials).

In view of developing and putting into practice the concept of "artificial disc" several issues must be taken into account:

- properties of material regarding biocompatibility, durability and compression strength;
- a design to restore the natural dynamics of the disc;
- the compatibility between the different materials utilised as far as the distructive action of one upon another is concerned;
- a secure insertion technique;
- a good attachment of the implant to the host.

Several articles describing the clinical results of disc prosthesis in different neurosurgery centers are reviewed. The results of biomechanical tests on the "Charité III" disc prosthesis are also presented.

The great complexity of the intervertebral disc from the mechanical, physiological and degenerative points of vue makes the disc prosthetics a real challenge both for neurosurgeons and for medical bioengineers.

Key words: intervertebral disc, prosthetics.

★ ★ ★

Scanned with OKEN Scanner

Biomaterials in Ophthalmology. Intraocular lenses.

Cristina Daniela LOSPA, Daniela Lorena RUSU

As many other medical specialties, ophthalmology has benefited from the development of the bioengineering concept which generated an important progress in clinical outcomes. Polymeric biomaterials have significantly proven their usefulness in ophthalmology, as keratoprostheses, intraocular lenses, scleral buckles and so on. The purpose of this paper is to present the intraocular lenses as an example of how the biomaterial concept leads to success in implantology. The paper sets the problem from the bioengineering viewpoint, referring to all the issues involved, thus being a potential guide for bioengineers, ophthalmologists and also for patients.

The crystalline lens plays a major role in the accommodation mechanism, being a very complex biological structure. Cataract, which signifies the opacification of the crystalline, is the first cause for blindness all over the globe. Removing the crystalline from the eye is the only valid option. The vision restoration is possible by substituting the refractive power of the crystalline, which is currently done by implanting an intraocular lens.

The clinical success of the intraocular lenses is due to continuous research for new designs and biomaterials to respond to specific problems. Our paper presents the main designs and biomaterials [poly(methyl methacrylate), acrylic copolymers, hydrogels and silicone] used for their manufacturing.

A special interest is assessed to the biocompatibility issue, as this is a crucial problem related to the biomaterial concept. This aspect has a particular significance for the intraocular lens implant, being directly involved in the most common complication, the formation of secondary cataract.

Other important issues presented here are the sterilization methods and the refractive power calculation for the intraocular lenses. These represent basic pieces of information for the ophthalmologist, and are important for the bioengineer due to their implications for the biomaterial concept, but also necessary for the patient, in order to understand all the factors involved in cataract surgery and consecutive intraocular lens implantation.

The last part of the paper is dedicated to the perspectives of the intraocular lenses. The problem of restoring the accommodation mechanism after cataract surgery is still a dream for the ophthalmologists, but the intense bioengineering research in this field shows that sooner rather than later this goal is likely to be achieved.

Key words: Intraocular lenses, ophthalmology, biomaterials.

Scanned with OKEN Scanner

Biomaterials in Ophthalmology. Intraocular lenses.

Cristina Daniela LOSPA, Daniela Lorena RUSU

As many other medical specialties, ophthalmology has benefited from the development of the bioengineering concept which generated an important progress in clinical outcomes. Polymeric biomaterials have significantly proven their usefulness in ophthalmology, as keratoprostheses, intraocular lenses, scleral buckles and so on. The purpose of this paper is to present the intraocular lenses as an example of how the biomaterial concept leads to success in implantology. The paper sets the problem from the bioengineering viewpoint, referring to all the issues involved, thus being a potential guide for bioengineers, ophthalmologists and also for patients.

The crystalline lens plays a major role in the accommodation mechanism, being a very complex biological structure. Cataract, which signifies the opacification of the crystalline, is the first cause for blindness all over the globe. Removing the crystalline from the eye is the only valid option. The vision restoration is possible by substituting the refractive power of the crystalline, which is currently done by implanting an intraocular lens.

The clinical success of the intraocular lenses is due to continuous research for new designs and biomaterials to respond to specific problems. Our paper presents the main designs and biomaterials [poly(methyl methacrylate), acrylic copolymers, hydrogels and silicone] used for their manufacturing.

A special interest is assessed to the biocompatibility issue, as this is a crucial problem related to the biomaterial concept. This aspect has a particular significance for the intraocular lens implant, being directly involved in the most common complication, the formation of secondary cataract.

Other important issues presented here are the sterilization methods and the refractive power calculation for the intraocular lenses. These represent basic pieces of information for the ophthalmologist, and are important for the bioengineer due to their implications for the biomaterial concept, but also necessary for the patient, in order to understand all the factors involved in cataract surgery and consecutive intraocular lens implantation.

The last part of the paper is dedicated to the perspectives of the intraocular lenses. The problem of restoring the accommodation mechanism after cataract surgery is still a dream for the ophthalmologists, but the intense bioengineering research in this field shows that sooner rather than later this goal is likely to be achieved.

Key words: Intraocular lenses, ophthalmology, biomaterials.

Scanned with OKEN Scanner

Aneurysm clips

Ion POEATĂ, Claudia ALBU, Marcel IVANOV

Intracranian aneurysms are the most frequent vascular malformations of the brain, therefore treatment of cerebral aneurysms represents a continuous topic of research for neurosurgeons.

At present, the most common implants used in treatment of intracranian aneurysms are aneurysm clips and endovascular coils. The use of stent in combination with coils in management of intracranian aneurysms was recently reported.

The chapter "Aneurysms Clips" is intended to be an analysis of aneurysm clip evolution focusing on its different aspects: design, materials, difficulties and potential complications, as well as modern solutions meant to improve performances.

This chapter includes a brief description of intracranian aneurysms and methods in aneurysm surgery. Also, the introduction and development of aneurysm clip with all its implications are presented: type of aneurysm clips, shape and morphology, materials as well as possible complications.

Aneurysm clips design is a compromise between neurosurgical needs and engineering technical limits; the ideal aneurysm clip (adapted to any surgical situation) is not yet realized. Therefore, this chapter reviews the modern solutions proposed for improving the aneurysm clip.

At the end of the chapter a series of 79 consecutive cases with intracranian aneurysms (1994-1999) operated by the first author with 126 aneurysm clips microsurgically implanted is analyzed.

Key words: intracranian aneurysm, surgery methods, clips.

★ ★ ★

Shape memory alloys

Gheorghe POP

In the past few years the shape memory alloys have attracted the attention of metallurgists and sigg engineers because of a number of remarkable proprieties

Scanned with OKEN Scanner

which open a revolutionary way of designing on the basis of entirely new principles compared with conventional alloys.

The most striking features of this family of alloys are the shape memory effect, the superelastic effect, and the very high damping capacity.

Shape memory effect – is the phenomenon consisting in the fact that an apparent plastic deformation of a metal alloy obtained by heating starts to remember its original shape at a certain temperature and returns to its deformed shape upon cooling.

Superelastic effect – is the effect by which a material recovers the indeed plastic strain upon anloading is known as the superplastic or pseudo-elasticity effect. The amount of this reversible strain is much greater than the classical elastic strain. In contrast to the shape memorii effect the temperature remains constant.

Recovery stressesare gradually generated when the shape recovery from the cold shape to the hot shape is impeded.

High damping capacity – is a result of change in internal structure and can be varied considerable as a function of temperature The three features are associated with a reversible martensiting transformation and this association limits the family of alloys exhibiting these special effects.

In this review the uses of the shape memory alloys in medical application is highlighted, and in order to understand fully the working principles of the biomdical devices the basic metallurgical mechanism of the shape memory alloys and the related effects are presented in this chapter.

Key words: shape memory, alloys, biomaterials, bioengineering.

★ ★ ★

Transdermal drug release systems

Mihai CHIRIȚĂ, Gabriela GEORGESCU,
Maria Daniela VLAD, Mona CIUBOTARIU

The transdermal systems are devices provided with an adhesive layer which allows them to become attached to the surface of the skin, and containing the active or precursor principle for a systemic action, included into a polymeric matrix, testing a prolonged or controlled release.

The transdermal systems are conceived in such a way as to assure the presence of the active agent at the surface of the skin, with a determined rate of release,

Scanned with OKEN Scanner

corresponding to a systemic pharmacological effect. In the design of a transdermic system, some of the important variables are the variation of the permeability of the skin, and the characteristics of the active principle and of the agent of transportation.

In 20 years of application, the transdermal controlled release systems proved to be a convenient, efficient and economic way of administration, which does not involve major risks in its use. This way of administration combines the local action with the systemic one, avoiding the first hepatic passage. The intrinsic and extrinsic factors determine the level of the drug concentration in the blood stream and involve certain limitations to the total dose and to the used molecular species.

The mathematical simulation is a method meant to estimate the kinetics of the metabolic processes in the live tissue and evaluation of the factors which affect the metabolism and the mass relative transport.

The mathematical model is not a true image of a physical, chemical or biological process, the model representing a mathematical description of a concrete process on which empirical or direct observations are made.

Simulations of some biological conditions or biostatistics, can be performed, but they are unable to determine, totally, the components of the vital processes from the body; the mathematical model is not an exhaustive one but it is useful in helping in the simulation and optimisation of some technologies involving chemical and biological processes.

The controlled release systems of transdermal drugs represent one of the most advanced and successful current technologies, because of the intrinsic advantages they include.

They release in the skin a quarter or a third from the contained drug quantity. With the exception of the horny layer, which is a major physical barrier, the skin acts also as an efficient metabolic barrier (the enzymatic activity of the skin is complex enough), capable of degrading a big variety of compounds.

The transdermal systems are different in relation to their respective composition and performance.

The fabrication of transdermal systems involves the utilization of new technologies, together with the realization of new, economic, efficient and competitive polymeric systems, with simple characteristics of utilization and control.

The penetration of the skin barrier by the active principle or by the precursors constitutes a field in which the applied scientific research has not reached a final conclusion.

Key words: controlled release, drug, transdermal systems, mathematical models, computational simulation.

★ ★ ★

Scanned with OKEN Scanner

Gene technology of the human hemophilia treatment

Angela PAVEL

Recombinant DNA techniques have transformed the perspectives for studying human genetic disease and have revolutionized biologic reasearch. The field of medicine is rapidly changing with the introduction of gene therapy as a treatment modality for various disorders, either inherited or acquired, that were once thought to be incurable. Gene therapy enables the successful transfer of foreign DNA into a cell to correct defective ar add missing genes.

Gene therapy can be done using an *in vitro* method (particularly, *ex vitro* transfer) or an *in vivo* method. The *in vitro* method, which is used most commonly, involves removal of target cells from body that are altered genetically and then the genetically altered cells are reinfused. This method has been used with limphocytes, hepatocytes, skin keratocytes, fibroblasts, and bone marrow cells. In the *in vivo* method, the altered gene and its vector is directly instilled into the patient.

This approach allows more promise for its potential to directly affect disease sites, minimize risks to the individual, and potentially decrease expense. The delivery vectors can be divided into two general categories: non-viral vectors, which include calcium-phosphate precipitates, electroporation, DNA-coated microprojectiles or "gene gun" method, "cocktail" gene transfer, liposome-mediated gene transfer, gene transfer by injection, and viral vectors for gene transfer. This last method includes the use of recombinant retroviruses, adenoviruses, adeno-associated viruses (AAV), and Herpes virus.

The most powerful method of gene transfer is the use of viral vectors. Due to their inherent nature of penetrating and inserting their genetic material into the target cell, viral vectors result in higher transfection rates when compared to the non-viral techniques.

Hemophilia is an X-linked recessive disorder characterized by the inability of the blood to clot properly. There are two characteristic phenotypes of the disease, including hemphilia A and hemophilia B. Hemophilia A, also known as Classical Hemophilia or factor VIII-deficient hemophilia is the more common of the two, and arises in cases where an individual suffers from deficiency in the blood clotting factor VIII. Hemophilia B (Christmas disease) is a disorder resulting in a deficiency of plasma factor IX, which is normally sinthetized and secreted from the liver. Care of the patients with hemophilia includes treatment of acute bleeding episodes,

Scanned with OKEN Scanner

rehabilitation and management of the chronic musculoskeletal complications, and prophylaxis. Prophylaxis of hemophilia is the administration of factors VIII or IX concentrates, prepared from plasma pooled from several donors. The risk of transmitting bloodborne viral diseases, such hepatitis and AIDS, via pooled plasma products increases substantially with the number of plasma donors involved.

Gene therapy of hemophilia disease has involved many approaches. A method has been developed for hepatic gene transfer *in vivo* by the direct infusion of recombinant viral vectors into the portal vasculature, which results in the persistent expression of exogenous genes for several months. To determine if these techonologies are applicable for the treatment of hemophilia A or B patients, preclinical efficacy studies were done in a hemophilia animal model.

The results validate the principle of *in vivo* hepatic gene delivery to reconstitute the genetic deficiency in a large animal model and suggest that gene therapy is achievable when long-acting vectors are developed. Future treatment for patients with hemophilia may include the use of either gene therapy, recombinant factor VIII, recombinant factor IX, or high-purity factor IX. Although studies on gene therapy are still at the pre-clinical stage, the results are incouraging. There are still many technical obstacles to be overcome before gene therapy can have widespread application.

Gene delivery needs to be improved and the target cells to be able to regulate gene expression according to physiological needs.

Key words: recombinant DNA technology, hemophilia.

★ ★ ★

Scanned with OKEN Scanner

Authors brief curriculum vitae

Scanned with OKEN Scanner

Ion POEATĂ

Professor

Department on Neurosurgery nr.1, Iaşi
Chairman of Neurosurgical Bioengineering Dept.
Head Division of Surgical Prosthesis,
Implants and Biomaterials,
IASI Medical University, Bioengineering Faculty
Phone: +4092480244
E-mail address: **ipoeata@mail.dntis.ro**
Mailing address:
University Hospital of Neurosurgery
2 Ateneului, 6600, Iaşi, Romania.

Education: graduated: "C.Negruzzi" College from Iaşi, 1973; "Gr.T.Popa" Medical University from Iasi, 1980; Neurosurgical Residency at Institute of Neurology and Psychiatry, Bucharest, 1988.

Specialisations: vascular microneurosurgery, spinal neurosurgery, modern methods in neurosurgery, transsphenoidal approach, neurotraumatology, radiosurgery (Brest, Berlin, London, Charlottesville, Erlangen, Hanover); European Society of Neurosurgery (EANS) Course 1996-1999 (Alborg, Southampton, Madeira, Barcelona).

Contributions to science and development –Contributions in introducing and/or developing in Iasi Medical Centre the following neurosurgical techniques: vascular microneurosurgery, cranial base tumours microneurosurgery, pituitary microadenomas transsphenoidal approach, carotid endarterectomy etc. Author and co-author of more than 300 scientific works in all neurosurgical fields published or presented in Romanian and international journals and meetings: Berlin, Toronto, Amsterdam, Garnish, etc. M.D. thesis: Cervical Disc Hernia ion, PhD thesis: Frontotemporal Mass Lesions, eight books: courses and monographs like: Primary Brain Haematoma, the first course in neurosurgery and neurosurgical technology for biomedical engineers students.

Other information: Chairman of Minimally Invasive Neurosurgery Department of Romanian Society of Neurosurgery (RSN). Second Chief Editor of "Neurochirurgia Iasi" Journal, Editorial Board member for Romanian Neurosurgery, AS Bios Journal. Neurosurgical scientific societies member: WFNS, EANS, INTS, RSN, ANR and also member in a lot of medical and biomedical engineering societies in different fields correlated with neurosurgery. Conference and courses organiser, commission expert member in neurosurgical competitions and exams: PhD, Chairman Clinical Department, Senior Neurosurgeon, and Associate Professor etc.

Scanned with OKEN Scanner

Honorary diploma of Iasi Medical University, 1999, member of directory council of Iasi Medical University. He is the scientifically coordinator on medical thematic of "Biomaterials, Implantology and Prosthetics." works collection.

Hobbies: gardening, bike, sightseeing, arts, and sciences.

Scanned with OKEN Scanner

Mihai CHIRIȚĂ

Associate Professor,

Head of Biomaterials and Prosthetic Technology Chair and of Natural Biomaterials discipline, University of Pharmacy and Medicine "Gr.T.Popa",
Medical Bioengineering Faculty, Iasi, Romania.
E-mail address: **mchirita@euroweb.ro**
fax.004032230614
Mailing address:
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa",
Facultatea de Bioinginerie Medicală,
Str.Universităţii nr.16, Iaşi, 6600, Romania.

Education - "National Lyceum" College from Iasi, special chemistry class, graduated in 1974; Faculty of Chemical Engineering, Polytechnic Institute of Iasi, Organically compounds technology, graduated in 1980; Ph.D. title 1993; graduated also the courses of Medical Informatics and Biostatistics in the year of 2001.

Experience – He has 22 years of extensive experience in research, pilot and industrial plant production and university teaching. Expertise in fine organically synthesis and organo-chemical complexation, products investigation, analysis and characterization, collagen chemistry, collagen products with medical uses, tissues histological study, optical microscopy and microphotography, natural composites, leather and fur processing technology, leather finishing.

At Medical Bioengineering Faculty of Iaşi, as head of Natural Biomaterials discipline, he is titular of the following university courses: Biopolimers, Natural composites, Oligomers, Cellulose products with biomedical uses, Controlled Drug release Systems, Blood Substitutes and Leather and products of leather with biomedical uses.

He initiated the Medical Bioengineering books series; he created the Advanced Biomaterials laboratory at the Medical Bioengineering Faculty; he initiate also this present collection of works with the title of "Biomaterials, Implantology and Prosthetics" and he is his active scientifically coordinator on biomaterials and prosthetic devices. He is conference and courses organiser.

Contributions to science and development – He is author and co-author of more than 60 scientific works (41 first author), 28 patents and patent demands (25 first author and 12 with industrial application), the books: The Skin chemistry (1987), The Animal Skin (1993), Treatise of leather and furs chemistry and technology (1999), Biopolymers and Natural Composites (2001), Cellulose, wood products and biomedical application (2001),

Scanned with OKEN Scanner

Mihai CHIRIȚĂ

Associate Professor,

Head of Biomaterials and Prosthetic Technology Chair and of Natural Biomaterials discipline, University of Pharmacy and Medicine "Gr.T.Popa",
Medical Bioengineering Faculty, Iasi, Romania.
E-mail address: **mchirita@euroweb.ro**
fax.004032230614
Mailing address:
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa",
Facultatea de Bioinginerie Medicală,
Str.Universității nr.16, Iaşi, 6600, Romania.

Education - "National Lyceum" College from Iasi, special chemistry class, graduated in 1974; Faculty of Chemical Engineering, Polytechnic Institute of Iasi, Organically compounds technology, graduated in 1980; Ph.D. title 1993; graduated also the courses of Medical Informatics and Biostatistics in the year of 2001.

Experience – He has 22 years of extensive experience in research, pilot and industrial plant production and university teaching. Expertise in fine organically synthesis and organo-chemical complexation, products investigation, analysis and characterization, collagen chemistry, collagen products with medical uses, tissues histological study, optical microscopy and microphotography, natural composites, leather and fur processing technology, leather finishing.

At Medical Bioengineering Faculty of Iaşi, as head of Natural Biomaterials discipline, he is titular of the following university courses: Biopolimers, Natural composites, Oligomers, Cellulose products with biomedical uses, Controlled Drug release Systems, Blood Substitutes and Leather and products of leather with biomedical uses.

He initiated the Medical Bioengineering books series; he created the Advanced Biomaterials laboratory at the Medical Bioengineering Faculty; he initiate also this present collection of works with the title of "Biomaterials, Implantology and Prosthetics" and he is his active scientifically coordinator on biomaterials and prosthetic devices. He is conference and courses organiser.

Contributions to science and development – He is author and co-author of more than 60 scientific works (41 first author), 28 patents and patent demands (25 first author and 12 with industrial application), the books: The Skin chemistry (1987), The Animal Skin (1993), Treatise of leather and furs chemistry and technology (1999), Biopolymers and Natural Composites (2001), Cellulose, wood products and biomedical application (2001),

Scanned with OKEN Scanner

Blood Substitutes (2001) and the university courses of Oligomers (2001), Controlled Drug release Systems (2002).

Other information – He managed as Head Director, for production, research and development, some Romanian commercial societies with leather and chemical production activity profile. On his patents base, in the year of 1995, he produced the first Romanian organically complexes tanning and retanning agents, ecological, who proved excellent technological quality.

In his family he represents a second generation of high degree specialists in leather and collagen chemistry and processing technologies.

Tetraligual (Romanian, French, English, Italian).

Honorary diploma of Iaşi Medical Bioengineering Faculty, 2000.

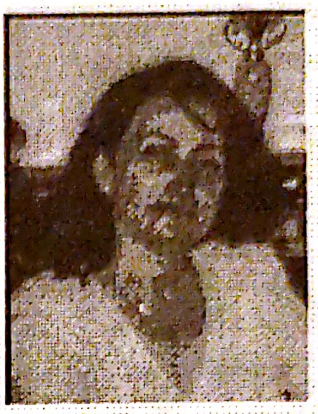
Hobbies: long tennis player, swimmer, car driving, biker, travel, painting, computer fun and music lover.

Scanned with OKEN Scanner

Gabriela GEORGESCU

Associate Professor

Head of Medical Informatics discipline,
University of Pharmacy and Medicine "Gr.T.Popa",
Medicine Faculty, Iasi, Romania.
E-Mail address: **gg@umfiasi.ro**
Mailing address:
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa",
Disciplina de Informatică Medicală,
Str.Universităţii nr.16, Iaşi, 6600, Romania.



Education : She graduated: Mathematics Faculty, "A.I.Cuza" University of Iaşi, with informatics specialization; programmer courses at Central Informatics Institute; automatic data processing courses at Central Institute of Informatics Management; Data Bases Project Courses and Relational Data Bases at Improvement Knowledge in Informatics and Consulting, Central Informatics Center of Bucharest; Pascal, C^{++}, LISP, PROLOG, Socrate Data Bases.

Experience : She has 25 years of extensive experience in Informatics and programming fields. She graduated also Programmer courses at Central Informatics Institute; automatic data processing courses at Central Institute of Informatics Management; data bases project courses and relational data bases at Improvement Knowledge in Informatics and Consulting, Central Informatics Center of Bucharest; Pascal, C^{++}, LISP, PROLOG, Socrates for data bases. As head of Informatics discipline she is titular of the following courses: Medical Informatics and Biostatistics.

Contributions to science and development – She published more than 80 scientifically papers (22 first author), she patented two computer programs and she is author and co-author at the following books: Mathematics – admittance exam tests (1996), Electromyography in the dental anomalies. Semiology and diagnostics (1998), Mathematics – exercises of analyses and algebra (1998), The Weibull Model in Medical Informatics – Theory and Applications (1998), Informatics – for students use (2002).

PhD thesis topic: Statistical methods study of the biological parameters analysis.

Other information - She is conference and courses organiser in Informatics domain and international programmes manager (TEMPUS interdisciplinary Dialogue Centre – Project Temous-Phare CME 02551-96 and Know How Transfer from University to Industry).

Hobbies: gardening, animals, music lover.

Scanned with OKEN Scanner

Daniela Lorena RUSU

Lecturer

Head of Synthetic Polymeric Biomaterials discipline
Chair of Biomaterials and Prosthetic Technology,
Faculty of Medical Bioengineering, University of
Medicine and Pharmacy "Gr.T. Popa" of Iaşi,
Romania.
E-mail address: **mrusu@ch.tuiasi.ro**
Mailing address: Universitatea de Medicină şi
Farmacie "Gr.T. Popa", Str.Universităţii nr.16, Iaşi,
6600, Romania.

Education : She graduated the Faculty of Industrial Chemistry (1992), Technical University "Gh. Asachi" of Iaşi and received her Ph.D. in Materials Science and Engineering (1997) from Ecole Nationale Supérieure des Mines de Paris (France), with the highest distinction "Très honorable, avec les félicitations du Jury".

Experience : She was visiting scientist at Centre de Mise en Forme des Matériaux, UMR CNRS 7635, Sophia Antipolis (France) and Institut für Physikalische Chemie, Johannes Gutenberg University, Mainz (Germany). She was involved in two European research projects on polymeric materials and obtained two research grants from the Romanian Minister of Research and Technology. Her research activities cover a wide range of topics in polymer blends and composites, polymeric biomaterials, polymer rheology and rheo-optics, static and dynamic light scattering applied for the study of complex polymeric materials.

Contributions to science and development – Daniela Rusu is author and co-author of more than 30 publications on polymeric materials and biomaterials and participated to a great number of national and international conferences on these topics.

Other information - Her current areas of interest include the synthesis, characterization and processing of polymeric materials involved in medical and biomedical applications.

Scanned with OKEN Scanner

Angela PAVEL

Lecturer

Chief of the discipline of General Biology, Cyto-tissue Cultures and Applied Genetics,
Medical Bioengineering Faculty,
University of Medicine and Pharmacy "Gr.T. Popa" of Iaşi, Romania.
E-Mail address: pavelang@uaic.ro
Mailing address: Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa", Str.Universităţii nr.16, Iaşi, 6600, Romania.

Education – she graduated the courses of the Biology Faculty "A.I.Cuza" of Iasi. PhD student at the Faculty of Biology of Iaşi, Romania.

Experience – She is the chief of the discipline of General Biology, Cyto-tissue Cultures and Applied Genetics Faculty of Medical Bioengineering of Iaşi.

She has two certificates (1996 and 1998, respectively) in the fields of specialization Immunology, Genetics and Pharmacology, granted by CNRS and Inserm (France), Paris-South University and "Gr.T.Popa" University of Medicine and Pharmacy of Iasi, under the patronage of the European Foundation for Education (Tempus-PHARE).

Research fields approached: plant cytogenesis; cell and plant tissue cultures; experimental mutagenesis; population genetics; plant biochemistry; medical genetics. She has 7 years of expertise in research - fields: genetics and plant tissue cultures (as researcher), and 2 years in the academic education (as lecturer).

Contribution to science and development : She has 30 scientifically papers published (in the country and abroad) and participation with papers in over 20 different scientific events (in the country and abroad). In addition, 8 works have been sent for to be printed.

Other information - Scientific society membership : European Cytogeneticists Association (ECA), "BioMedNet" International Society of Physicians and Naturalists, National Society of Cellular Biology; "Soveja" Geneticists' League, Romanian Association for Life Sciences, National Foundation of Geneticists.

Scanned with OKEN Scanner

Gheorghe POP

Lecturer

Head of Inorganic Biomaterials discipline, Chair of Biomaterials and Prosthetic Technology,
Faculty of Medical Bioengineering, University of Medicine and Pharmacy "Gr.T. Popa" of Iaşi, Romania.
Mailing address: Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa", Str.Universităţii nr.16, Iaşi, 6600, Romania.

Education – He graduated the Polytechnic University from Bucharest in 1967, specialisation in non-ferrous and rare metals.

Specialisation - For more than 30 years of professional activity he has worked in the field of metal and alloy production (elaboration, cast, plastic deformation and thermal treatments), in the field of metallurgic technology research and in technical university teaching as an associate professor within the Technical University of Iasi.

Experience - He has an extensive experience in: production and processing of metals and alloys for all fields, research of metallurgic technologies as chief of laboratory and principal scientific researcher, first degree in the metallic material science, associate professor of the Technical University from Iasi.

Personal contribution to science and development : Research and formulation of some steel types with special destination, Obtaining 10 invention patents in the field of metallurgic technology, one of them being awarded a medal at Brussels in 1997, pioneer of Romanian speciality in the field of metallic and composite biomaterials with biomedical applications: Inorganic composite materials (2001), Metallic biomaterials (2001).

Scanned with OKEN Scanner

Maria Daniela VLAD

Assistant lecturer

Natural Biomaterials discipline,
Biomaterials and Prosthetic Technology Chair,
Medical Bioengineering Faculty,
University of Pharmacy and Medicine "Gr.T.Popa", Iasi, Romania.
Mailing address: Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa", Str.Universităţii nr.16, Iaşi, 6600, Romania.

Education: She graduated the Faculty of Medical Bioengineering, "Bioactive Substances and Medical Biotechnology " Section (2000), the Chromatography techniques – post university courses (2000) and MD with Advances in Bioactive Sustances topic (2001) at the University of Medicine and Pharmacy "Gr.T. Popa" of Iaşi.

Experience and personal contribution: She substains the practical laboratory activities to the following disciplines: Biopolimers, Natural composites, Oligomers, Cellulose products with biomedical uses, Controlled Drug release Systems, Blood Substitutes and Leather and products of leather with biomedical uses for two final years of study in Biomaterials and Prothetic Technologies specialisation.

She has published or comunicated more than 15 papers in national or foreign publications, in Congress or Symposium volumes.

She is co–author of the „Natural Organically Biomatherials. Experimental works" for students use (2002).

Other information: bilingual (Roumanian, English).

Scanned with OKEN Scanner

Marcel IVANOV

Education - He graduated the courses of the University of Medicine and Pharmacy "Gr.T.Popa", Iasi, Romania and of courses focused on neurosurgery, neurophysiology, algesiology, scientific publishing, neuronavigation etc. of the same University.

Present position - Medical Doctor in the 3-rd year resident at University of Medicine and Pharmacy "Gr.T.Popa", Department of Neurosurgery.

Contribution to research and development - M.D. Thesis: "Fulminant Viral Hepatitis" – Department of Infectious Diseases, UMP "Gr.T.Popa" Iasi, Romania; Author and co-author of many scientific works (in the field of neurosurgery, algesiology, bioengineering) published or presented in country and abroad. Co-worker and partner in scientific studies in the field of microneurosurgery, neuroanathomy, study of pain. Participant on Conferences and congresses in Romania and abroad (Germany, Austria, Denmark, Egypt, Japan).

Other information - He was invited to University of Greifswald, Germany in 2002-2003 for the stage of Minimal Invasive Neurosurgery, Neuronavigation and Neuroendoscopy; editorial team's member of „Neurochirurgia Iaşi" journal; pentaligual (Russian, English, Romanian, German, French).

He is the designer for the web pages with medical content (web page of Romanian Association for the Study of Pain – www.rasp.cjb.net , Department of Neurosurgery Iasi – www.neurosurgis.cjb.net, Romanian National Conference of Neurosurgery – 2001 etc).

Hobbies: Internet, web design, classic music, radio amateur, jogging, Russian and German literature and culture, guitar.

Alexandru CHIRIAC

He has graduated the Medical Bioengineering Faculty at the University of Medicine and Pharmacy Iasi in 2001. He is currently working as a bioengineer at the Neurosurgery Hospital in Iasi. He is involved in several research projects on neurosurgical prosthetics, functional neurosurgey, implantology and biomaterials.

E-mail address: chiriac_a@hotmail.com
Mailing address: University Hospital of Neurosurgery 2 Ateneului, 6600, Iasi, Romania.

Scanned with OKEN Scanner

Cristina Daniela LOSPA

She graduated the Faculty of Medical Bioengineering, "Biomaterials and Prosthetics Technology" Section, at the University of Medicine and Pharmacy "Gr.T. Popa" of Iaşi, Romania. She participated at national and international conferences on biomaterials and medical bioengineering topics and she was involved in a European research project. The subject of her graduation paper was "Intraocular implants".

She is now Ph.D. student at the Faculty of Industrial Chemistry, Technical University "Gh. Asachi" of Iaşi, working on biomaterials in ophthalmology (modelling of the accommodation mechanism, synthesis and characterization of polymeric biomaterials with ophthalmologic applications, conception of intraocular implants).

E-mail address: cdlospa@ch.tuiasi.ro

Mona CIUBOTARIU

She graduated the Medical Bioengineering Faculty, specialty of Bioactive substances, at the University of Medicine and Pharmacy Iasi in 2000. She is involved in several research activities about some biomaterial composites and their related controlled drug release properties.

Claudia Adriana ALBU

Education – In present student at the University of Medicine and Pharmacy "Gr.T.Popa, IASI, Faculty of Medical Bioengineering, Department of Biomaterials and Prosthetics Technology, VI-th final year of study.

Experience: Research activity at the Department of Biomaterials and Prosthetics Technology concerning the study of hydrogels and their implications in drug delivery systems and soft contact lenses. She is co-worker and partner in scientific studies in the field of biomaterials in microsurgery. Participant on Conferences and Congresses in Romania and abroad. In present she is performing studies at the University of Portsmouth, Great Britain.

Other information: She has good ability to work in team, resistance to prolonged intellectual effort, experience of working in a chemistry lab.

Tetralingual: Romanian; English; French; Hungarian.

Hobbies: Internet, classical music, basketball, tourism, skating, jogging, literature.

Scanned with OKEN Scanner

Dintre tematicile viitoare ale colecţiei:

BIOMATERIALE, IMPLANTOLOGIE ŞI PROTEZARE MEDICO-CHIRURGICALĂ

- Electrozi implantabili
- Aplicaţii biomedicale ale hidrogelurilor
- Stenturile vasculare
- Performanţe ale biomaterialelor colagenice
- Aplicaţii biomedicale ale modelării prin metoda elementului finit. Proteza totală de şold
- Implantologie neurochirurgicală. Studiu statistic
- Soluţii volemice
- Soluţii de proiectare în bioingineria medicală

Scanned with OKEN Scanner

În colecția

BIOINGINERIE MEDICALĂ

Au apărut:

1. **Biopolimeri și compozite naturale**
   Mihai Chiriță

2. **Materiale compozite anorganice**
   Gheorghe Pop

3. **Substituenți sanguini. vol. I**
   Mihai Chiriță

4. **Celuloză, produse din lemn. Aplicații biomedicale**
   Mihai Chiriță

5. **Biomateriale metalice**
   Gheorghe Pop

Scanned with OKEN Scanner

În colecția

BIOINGINERIE MEDICALĂ

Au apărut:

1. **Biopolimeri și compozite naturale**
   Mihai Chiriță

2. **Materiale compozite anorganice**
   Gheorghe Pop

3. **Substituenți sanguini. vol. I**
   Mihai Chiriță

4. **Celuloză, produse din lemn. Aplicații biomedicale**
   Mihai Chiriță

5. **Biomateriale metalice**
   Gheorghe Pop

Scanned with OKEN Scanner

Lucrări în pregătire

Biofizica cardiacă circulatorie.
Elemente de bioinginerie medicală
Rodica M. Isac, Corina M. Duja, Fl. Topoliceanu

Prelucrări şi analiză de imagini
Aplicaţii în imagistica biomedicală
Hariton Costin

Sisteme de eliberare a medicamentelor
Mihai Chiriţă

Sănătatea, sistemele de sănătate şi managementul sănătăţii
Liviu Druguş

Biomecanica şoldului normal şi protezat
Paul Botez

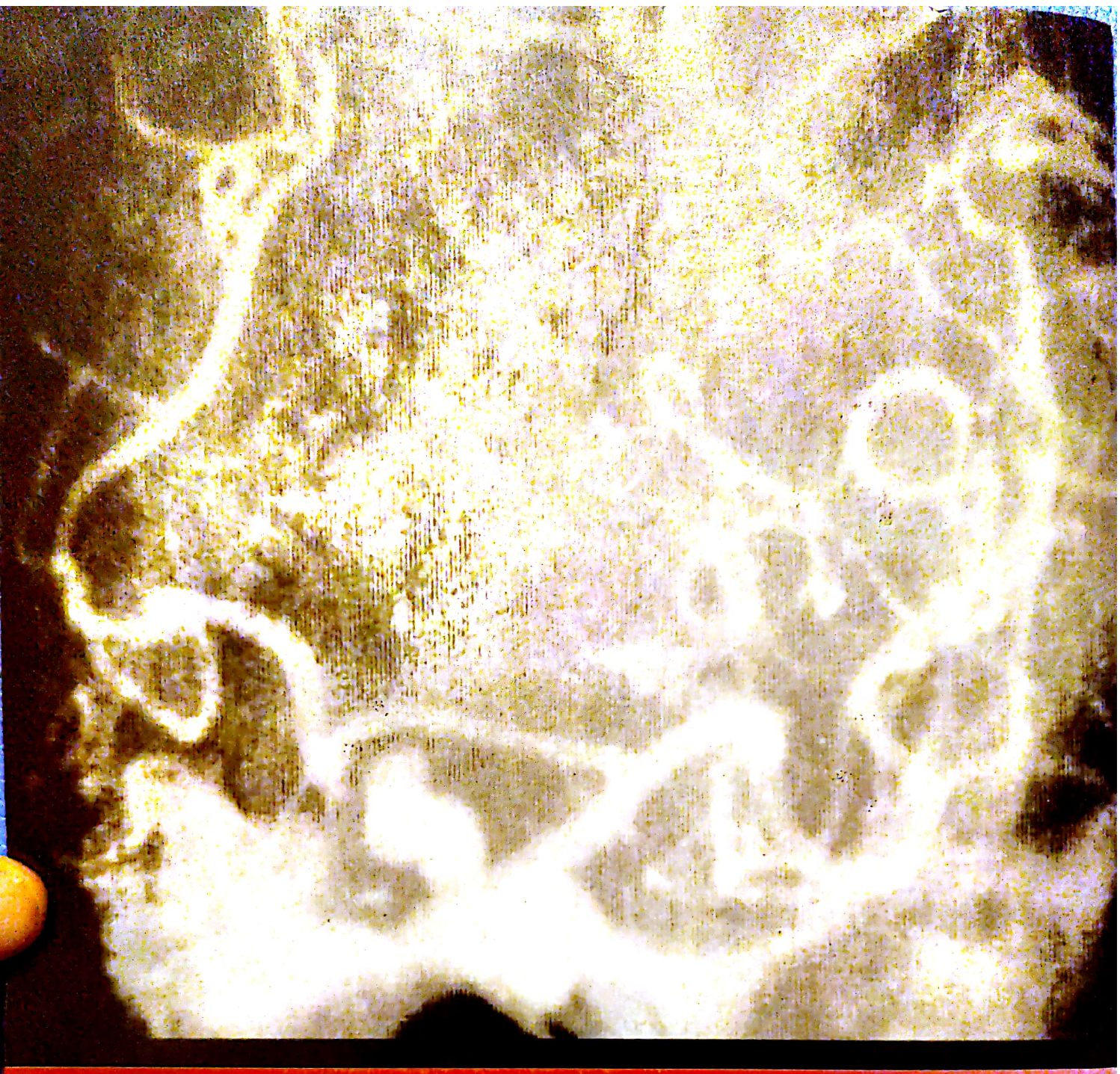
English for Medical Bioengineering
Radu Cozmei

Fizico-chimia biomaterialelor polimerice sintetice
Daniela Rusu

Tehnologii de endo şi exo-protezare
Alexandru Vizitiu

Acţionări hidropneumatice cu aplicaţii în bioinginerie
Alexandru Vizitiu

Scanned with OKEN Scanner



. . . . . Biomateriale (ceramice, metalice, organice naturale, sintetice) biocompozite, biopolimeri, materiale inteligente, sisteme de eliberare controlată a medicamentelor, medii poroase, electrozi și biosenzori, componente de protezare (produse din piele, celuloză, adezivi, lianți, cimenturi), biocompatibilitate, substituenți (sanguini, de plasmă, osoși etc.), biomateriale protezabile și proiectare, inginerie citotisulară, inginerie genetică, design protetic, biomecanică, mecanica protezării, țesuturi și organe artificiale și bioartificiale, implantologie, elemente de macro și microprotezare, semiologie, patologie, protezare ortopedică și asistență chirurgicală, patologie și terapie chirurgicală generală, patologie neurochirurgicală, craniofacială, spinală, anatomie clinică neurolocomotorie, sisteme de protezare (dermică, ortopedică, spinală, ORL, estetică etc.) . . . . .

Scanned with OKEN Scanner